

Aus der Frauenklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Die Phosphorylase – (EC 24.1.1.) und
Phosphoglucomutaseaktivität (EC 2.7.5.1.)
im Lebergewebe normaler und trächtiger Ratten**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von
Ulrich Nauroth

aus Gebhardshain/Ww.

1973

Aus der Frauenklinik der
Johannes Gutenberg - Universität
Mainz

Die Phosphorylase - (EC 2.4.1.1.) und Phospho-
glucomutaseaktivität (EC 2.7.5.1.) im Leber-
gewebe normaler und trächtiger Ratten

I n a u g u r a l d i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen
Fakultät der Johannes Gutenberg Universität Mainz.

vorgelegt von
Ulrich Nauroth
aus
Gebhardshain/Ww.

Fachbereichs-Dekan: Professor Dr. Langendorf

Referent: Professor Dr. Rathgen

Korreferent: Professor Dr. Friedberg



Die Phosphorylase- (EC 24.1.1.) und
Phosphoglucomutaseaktivität (EC 2.7.5.1.)
im Lebergewebe normaler und trächtiger Ratten.

G l i e d e r u n g

- A. Einleitung
- B. Methodik
 - 1. Tiere und Aufarbeitung
 - 2. Vorversuche
 - 3. Testansätze und Reagenzien
 - a) Phosphorylase
 - b) Phosphoglucomutase
 - 4. Meßvorgang und Berechnung der Aktivitäten
 - a) Phosphorylase
 - b) Phosphoglucomutase
 - 5. Statistische Methoden
- C. Ergebnisse
- D. Diskussion
- E. Zusammenfassung
- F. Literatur

A. Einleitung

Phosphorylase und Phosphoglucomatose waren Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Neben den chemischen und physikalischen Eigenschaften (KENT (70), MADSEN (87), RALL (102, 103), SUTHERLAND et.al. (132), ILLINGWORTH (60), HESTRIN (55), JOSHI (64, 65), DOMSCHKE (26), NAJJAR (95)), galten die Nachforschungen vor allem der Stellung der Enzyme im Stoffwechsel.

Die Phosphorylase baut in einer irreversiblen Reaktion Glykogen zu Glucose-1-Phosphat ab, die Phosphoglucomutase katalysiert den anschließenden Schritt vom Glucose-1-Phosphat zum Glucose-6-Phosphat, dem wichtigsten Metaboliten des Glucosestoffwechsels. Auf diese Weise kann sehr rasch das Reservoir an Leberglykogen mobilisiert werden und in Form freier Glucose dem übrigen Organismus zur Verfügung gestellt werden. Es gehört zu den Verdiensten der Arbeitskreise um C.F.CORI (24) - Glykogenabbau durch die Phosphorylase - und um DE DUVE (27) - Bildung freier Glucose in der Leber durch eine spezifische Leberphosphatase -, diese Reaktionsabläufe aufgeklärt zu haben.

Wie entscheidend wichtig diese Enzyme für den Glykogenstoffwechsel sind, erhellt aus der Tatsache, daß es bei ihrer Inaktivität zu Glykogenspeicherkrankheiten, den sog. Glykogenosen, kommt (WEBER (145), STETTEN (126), HULSMANN (59)), die vor allem durch die dabei häufig auftretenden Hypoglykämien und Organveränderungen zu schwerwiegenden, oft tödlichen Folgen führen.

Sowohl Phosphorylase als auch Phosphoglucomutase kommen in zwei unterschiedlich aktiven Formen vor, deren Umwandlung von der einen in die andere durch einen von vielen Faktoren beeinflussten, komplizierten Mechanismus gesteuert wird. Eine wesentliche Rolle hierbei spielen Hormone. So fanden JOSHI und Mitarbeiter (65) eine erhebliche Steigerung der

Phosphoglucomutaseaktivität nach Gaben von Adrenalin und Insulin. Sehr stark abhängig vom Einfluß des Adrenalins und des Glucagons ist die Aktivität der Phosphorylase (WOSILAIT (154)).

Die Schwangerschaft bringt ihrerseits hormonelle Umstellungen und Stoffwechseleränderungen mit sich. So ist zum Beispiel die Nebennierenrindenproduktion an Cortisol vermehrt (BURT (13,14)) und der Plasmainsulinspiegel erhöht (PICARD (100), KALKHOFF (66)). Als Ausdruck der Beeinflussung des Fettstoffwechsels zeigt sich in der Gravidität konstant eine signifikante Erhöhung der Lipide, des Cholesterins und der Freien Fettsäuren des Serums (DUYNE (28)). Von den Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels seien die besonders am Ende der Schwangerschaft stärker werdende Abnahme der Glucosetoleranz (GRAVES (46), LUND (85)), der bei Graviden gegenüber Nichtgraviden herabgesetzte Nüchternblutzuckerspiegel (BURT (12)), RATHGEN (105)) und die Gefahr der Entwicklung eines manifesten Diabetes mellitus (BAIRD (4)) mit den daraus resultierenden Gefahren für Mutter und Kind erwähnt.

Genauere Untersuchungen von Enzymen und Metaboliten des Kohlenhydratstoffwechsels, besonders denen der Glykolyse, die von RATHGEN und Mitarbeitern (105, 106) durchgeführt wurden, ergaben bei einigen Parametern eine deutliche Abweichung von der Norm.

Da einerseits sehr enge Beziehungen zwischen Glucose- und Glykogenmetabolismus bestehen - z. B. Auftreten von Hypoglykämien bei Unterfunktion der Phosphorylase bzw. Phosphoglucomutase - andererseits der Einfluß der Gravidität auf den Glucosestoffwechsel bekannt ist, war es interessant zu erfahren, ob die beiden Enzyme der Glykogenolyse in der Schwangerschaft ebenfalls eine Veränderung erfahren und ob sich aus ihrem Verhalten Rückschlüsse auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Gestation ziehen lassen.

B. Methodik

1. Tiere und Aufarbeitung

Zu den Versuchen wurden weibliche Ratten vom Typ Sprague-Dawley verwendet. Das durchschnittliche Körpergewicht betrug bei den trächtigen Tieren 270 g und bei den normalen 230 g. Die mittlere Anzahl der Föten schwankte zwischen 3 und 15, die mittlere Fötenlänge lag bei 29 mm. (10 bis 47). Die Versuchstiere wurden mit einer Altromin-Standarddiät und Wasser ad libitum bis zum Versuchsbeginn ernährt.

Die Ratten wurden durch Nackenschlag und nachfolgende Dekapitation getötet, wobei auf möglichst vollständiges Ausbluten geachtet wurde. Nach dem Aufspannen des Tieres auf einer Korkplatte und der Eröffnung der Bauchhöhle mittels eines Doppel-T-Schnittes wurde die Leber rasch herauspräpariert. Fett und Bindegewebsreste wurden sorgfältig entfernt. Von der sofort in ein Gefäß mit eisgekühltem Natriumphosphatpuffer gebrachten Leber wurde ein Lappen abgeschnitten, ausgewogen und wieder in eiskalten Natriumphosphatpuffer gelegt. Dabei betrug das Verhältnis von Lebergewicht zu Puffervolumen immer genau 1 : 4. Anschließend wurde die Leber unter dauernder Eiskühlung in einem dickwandigen Glas mit dem Ultra - Turrax 2 x 15 sec. lang homogenisiert. Das Homogenat wurde 30 Minuten mit 20 000 U/Min. und bei einer konstanten Temperatur von 0° C in der Ultrazentrifuge zentrifugiert. Der klare Überstand wurde danach vorsichtig dekantiert und zur Aktivitätsbestimmung beider Enzyme verwendet.

Bei allen Versuchen wurde auf eine möglichst konstante Zeitspanne zwischen Dekapitation der Tiere und Meßbeginn geachtet. Sie betrug im Mittel 45 Minuten.

2. Vorversuche

Zur Einarbeitung in die Methode und zur Kontrolle der eigenen Arbeitsgenauigkeit wurden vor den eigentlichen Tierversuchen zahlreiche Vorversuche durchgeführt. Hierbei wurden jeweils zwei Enzymbestimmungen mit der gleichen Menge an reinem Enzymkonzentrat als Starter-substanz ausgeführt und die beiden Ergebnisse auf Übereinstimmung der Extinktionsänderung in der Zeiteinheit geprüft. Die Tabelle 1 zeigt die sehr große Meßgenauigkeit anhand zweier Wertepaare:

NR	Phosphorylase-konzentration	Extinktions- änderung E_t	Meß- genauigkeit
1a	50 μ Mol	0,0088	99%
1b	50 μ Mol	0,0089	
2a	100 μ Mol	0,0100	100%
2b	100 μ Mol	0,0100	

Tab.1: Überprüfung der Arbeitsmethode mittels reiner Enzymkonzentrate

Die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Enzymkonzentration der Phosphorylase ist in Tabelle 2 dargestellt. Bei Werten von 100 μ Mol Phosphorylase ist bei gleichbleibender Substratkonzentration von 0,1 ml Glykogen (60 mg Glykogen/1 ml Aqua dest.) die maximale Aktivität im Test erreicht.

Glykogen- menge	Phosphorylase- konzentration	Extinktions- änderung E_T
0,1 ml	1,0 μ Mol	0,0034
"	2,0 μ Mol	0,0054
"	10,0 μ Mol	0,0072
"	50,0 μ Mol	0,0089
"	100,0 μ Mol	0,0100
"	200,0 μ Mol	0,0097

Tab. 2: Abhängigkeit der Phosphorylaseaktivität von der Enzymkonzentration

Da die Konzentrationen der Phosphorylase in Tierlebern niedriger liegen als bei diesen Versuchen, war sichergestellt, daß bei den eigentlichen Messungen mit dem notwendigen Substratüberschuß gearbeitet wurde.

Die Phosphorylase kommt als Muskel- und Leberphosphorylase a und b vor. A ist die aktive, b die inaktive Form. Die b-Form des Muskels benötigt AMP als allosterischen Effektor (FÖRSTER-MEHNERT (36)), während Leberphosphorylase in keiner Form von AMP aktiviert wird. Der Zusatz von 10^{-4} Mol AMP zum

Testansatz ergibt, wie aus Abbildung 1 zu ersehen, keine Aktivitätsänderung. Um einen Einfluß von Glucose-1-Phosphat auf das Reaktionsgemisch auszuschließen, erfolgte eine Zugabe von 10^{-4} Mol Glucose-1-Phosphat zum Test. Es trat keine Änderung der Aktivität ein.

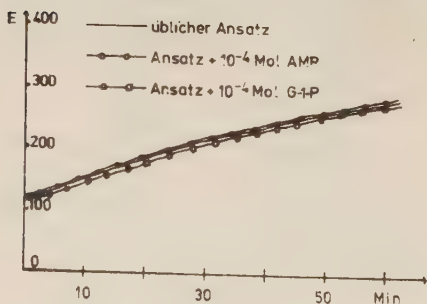


Abb.1: Einfluß von AMP und Glucose-1-Phosphat auf die Phosphorylaseaktivität

Der Vergleich der Anstiegssteilheit der Extinktionskurven beim Start mit NADP bzw. Homogenatüberstand (HU) brachte bei der Phosphorylase keinen Unterschied; bei der Phosphoglucomutase zeigte der Anfangsteil der Kurve bei Start mit NADP einen etwas schnelleren Anstieg. (Abbildung 2).

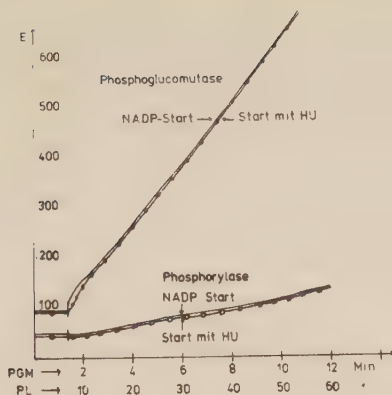


Abb. 2: Kurvenanstiege bei Start mit NADP und HU

Nach rund 1 Minute waren beide Kurvensteigungen jedoch identisch. Dennoch wurde zur Ermittlung der Phosphoglucosemutaseaktivität die Extinktionsänderung nur im linearen Kurventeil abgelesen.

3. Testansätze und Reagenzien

a) Phosphorylase

Die Bestimmung der Phosphorylaseaktivität erfolgte im spektrophotometrischen Test nach einer von HÜLSMANN (59) angegebenen und geringfügig modifizierten Methode. (Reaktions-schemata siehe Gleichung 1 - 3 Seite 12). Es ergab sich folgender Testansatz:

0,05 ml NaCl ($18,75 \times 10^{-3}$ M/ml Ansatz)
1,50 ml Natriumphosphatpuffer (0,01 M, pH 7,5)
0,10 ml Glykogen (60 mg/ml)
0,02 ml PGM (2 mg/1 ml)
0,02 ml G-6-PDH (1 mg/1 ml)
0,05 ml $MgCl_2$ (15×10^{-3} M/ml Ansatz)
1,00 ml Tris-Puffer (75×10^{-3} M/ml Ansatz, pH 7,5)
0,05 ml Trilon (10 g Titriplex III/100 ml Aqua dest.,
neutralisiert mit 2 N NaOH)
0,19 ml Aqua dest.
0,01 ml NADP ($0,355 \times 10^{-3}$ M/Ansatz)
0,01 ml Homogenatüberstand als Starter (entspr. 2,5 mg
Leberfrischgewicht).

b) Phosphoglucomutase

Die Aktivität der Phosphoglucomutase wurde ebenfalls im optischen Test nach einem von BERGMAYER (6) angegebenen und geringfügig veränderten Verfahren bestimmt. (Reaktions-schemata siehe Gleichung 7-8 Seite 15,16). Bei diesen Versuchen wurde davon ausgegangen, daß im Nativpräparat ausreichende Mengen an Glucose-1,6-Diphosphat vorhanden sind. Der Testansatz enthielt:

0,05 ml $MgCl_2$ (15×10^{-3} M/ml Ansatz)
0,10 ml G-1-P (20 mg/ml)
0,05 ml Trilon (10 g Titriplex III/100 ml Aqua dest.,
neutralisiert mit 2 N NaOH)
0,02 ml G-6-PDH (1 mg/1 ml)
2,72 ml Trap-Puffer (0,1 M, pH 7,5)
0,01 ml Homogenatüberstand (entspr. 2,5 mg Leberfrisch-
gewicht)
0,05 ml NADP als Starter (10 mg/ml)

Bei beiden Versuchsabläufen betrug das Endvolumen 3 ml und die Schichtdicke des Testansatzes 1 cm. Die Messungen der Reaktionen erfolgten im Eppendorf-Photometer bei einer Wellenlänge von 366 nm und einer konstanten Temperatur von 25° C über einen Zeitraum von 60 Minuten für die Phosphorylase und von 20 Minuten für die Phosphoglucomutase.

Alle Enzyme sowie NADP und Tris-Puffer wurden von der Firma C.F. Boehringer, Mannheim, $MgCl_2$, NaCl und Trap-Puffer von der Firma Merck, Darmstadt, bezogen.

Zum Ansetzen der Lösungen wurde 3-fach destilliertes Wasser verwendet: die beiden letzten Stufen wurden aus einer Quarz-apparatur gewonnen.

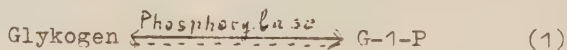
Verwendete Abkürzungen:

G-1-P	-	Glucose-1-Phosphat
G-6-P	-	Glucose-6-Phosphat
G-6-PDH	-	Glucose-6-Phosphatdehydrogenase
G-6-P-Lacton	-	Glucose-6-Phospholacton
AMP	-	Adenosinmonophosphat
NADP	-	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NADPH	-	reduziertes NADP
PGM	-	Phosphoglucomutase
FFS	-	Freie Fettsäuren
HPL	-	human placental lactogen
Tris	-	Tris-hydroxymethyl-aminomethan
Trap	-	Triäthanolamin-Puffer
Trilon	-	Neutralisiertes EDTA = Äthylendiamin- tetra-acetat
G-1,6-DP	-	Glucose-1,6-Diphosphat
HU	-	Homogenatüberstand
ATP	-	Adenosintriphosphat
UTP	-	Uridintriphosphat
ADP	-	Adenosindiphosphat
UDP	-	Uridindiphosphat

4. Meßvorgang und Berechnung der Aktivitäten

a) Phosphorylase

Die im Homogenatüberstand vorhandene Phosphorylase spaltet vom Glykogen 1,4-glykosidisch gebundene Glucosereste in einer phosphorolytischen Reaktion ab. (KARLSON (68)).



Das Gleichgewicht der Reaktion liegt weit auf der rechten Seite der Gleichung. Im nächsten Schritt entsteht durch die Wirkung der Phosphoglucomutase Glucose-6-Phosphat.



Diese Stufe ist frei reversibel. Glucose-6-Phosphat wird durch die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase dehydriert zu Glucose-6-Phospholacton. Coferment ist das NADP, das dabei zu NADPH reduziert wird.



Bei genügend hoher Substratkonzentration von Glykogen und bestehendem Überschuß von Phosphoglucomutase und Glucose-6-Phosphatdehydrogenase wird die Reduktionsrate von NADP allein limitiert von der Konzentration der im Homogenatüberstand vorliegenden Phosphorylase und ist somit ein direktes Maß für die Aktivität des Enzyms.

Die Reduktion von NADP zu NADPH kann mit Hilfe des Photometers gemessen werden, da NADPH im Bereich von 340 nm ein breites Absorptionsmaximum hat. NADP absorbiert hier nicht. (KARLSON (68)).

Durch die NADP Hydrierung ändert sich die Durchlässigkeit D des Reaktionsgemisches für den durchtretenden Lichtstrahl. Zwischen der Durchlässigkeit D und der Konzentration c eines Stoffes besteht nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz folgendes exponentielles Verhältnis:

$$D = I/I_0 = 10^{-cxdx\xi} \quad (4)$$

Dabei ist: I = durchtretender Lichtstrahl

I_0 = eintretender Lichtstrahl

d = Schichtdicke des Reaktionsgemisches

c = Konzentration des Stoffes in Mol/ml

ξ = Molarer Extinktionskoeffizient (Extinktion, die 1 Mol eines Stoffes in 1 ml bei einer Schichtdicke von 1 cm hat)!

Logarithmieren der Gleichung (4) ergibt:

$$-\log I/I_0 = E = cxdx\xi \quad (5)$$

Der negative Logarithmus der Durchlässigkeit D ist die Extinktion E. Bei hoher Substratkonzentration ist die Zunahme der Lichtabsorption pro Zeiteinheit der Enzymkonzentration proportional. (KARLSON (68)).

Auflösung der Gleichung (5) nach c ergibt:

$$c = \frac{E}{d \times \xi} \quad (6)$$

Die Zunahme der Lichtabsorption durch die Reduktion von NADP zu NADPH wird vom Photometer mittels eines Linearschreibers in einer Extinktionskurve dargestellt.

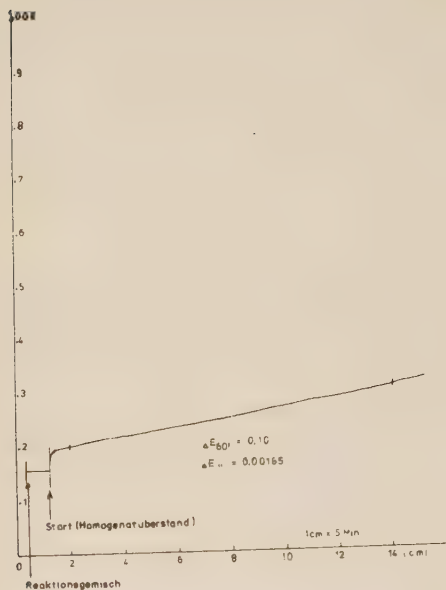


Abb. 3

Aus Abbildung 3 ist eine während einer Phosphorylasebestimmung über 60 Minuten gemessene Extinktionsänderung von 0,100 zu ersehen, entsprechend einer Extinktionsänderung von 0,00165 pro Minute.

Der molare Extinktionskoeffizient von NADP bei einer Wellenlänge von 366 nm liegt bei $3,3 \times 10^6$. Die Schichtdicke und das Endvolumen des Gemisches waren mit 1 cm bzw. 3 ml bei allen Versuchen gleich.

Einsetzen der Werte in Gleichung (6) ergibt:

$$c = \frac{0,00165 \times 3,0}{1,0 \times 3,3 \times 10^6}$$

$$c = 1,5 \times 10^{-3} \mu\text{M}/0,01 \text{ ml}$$

Die Menge an reduziertem NADP beläuft sich also auf diesen Wert. Der Umsatz von NADP zu NADPH ist, wie oben beschrieben, direkt proportional der Phosphorylaseaktivität. Die Maßeinheit der Enzymaktivität ist das Unit (U). Definitionsgemäß besitzt diejenige Enzymmenge eine Aktivität von 1 U, die pro Minute einen Stoffumsatz von 1 $\mu\text{M}/\text{ml}$ hat.

Die Aktivität der Phosphorylase beträgt in diesem Beispiel demnach:

$$1,5 \times 10^{-3} \text{ U}/0,01 \text{ ml/Min.} =$$

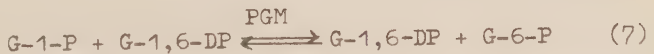
$$1,5 \text{ mU}/0,01 \text{ ml/Min.}$$

Wie oben beschrieben, wurden auf 1 g Leber 4 ml Natriumphosphatpuffer gegeben. Daraus läßt sich ein Frischlebergehalt von 2,5 mg in 0,01 ml Homogenatüberstand errechnen und eine auf 1 mg Frischlebergewicht bezogene Phosphorylaseaktivität von

$$\underline{0,6 \text{ mU}/\text{mg}/\text{Min.}}$$

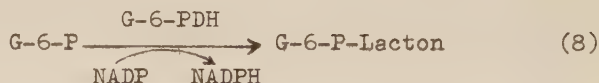
b) Phosphoglucomutase

Die Bestimmung der Phosphoglucomutase erfolgte nach dem gleichen Prinzip, Phosphoglucomutase lagert Glucose-1-Phosphat in Glucose-6-Phosphat um. Dabei ist in katalytischen Mengen Glucose-1,6-Diphosphat notwendig, dessen 1-ständige Phosphatgruppe auf die 6-Stellung des Substrates Glucose-1-Phosphat übertragen wird. Damit ist ein Molekül Glucose-1,6-Diphosphat neu gebildet und das verbrauchte Molekül erscheint als Produkt der Reaktion:



Die Phosphoglucomutase katalysiert den Reaktionsablauf in beiden Richtungen.

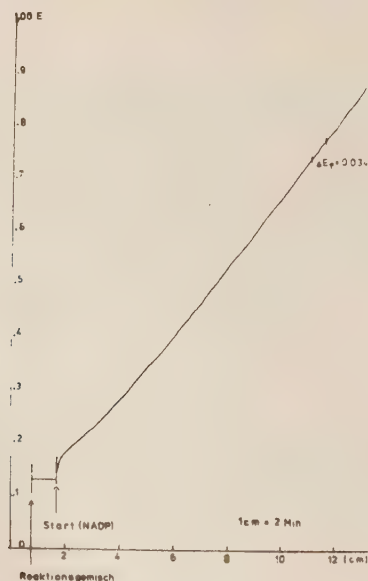
Durch die Wirkung der Glucose-6-Phosphatdehydrogenase entsteht unter gleichzeitiger Reduktion von NADP zu NADPH Glucose-6-Phospholacton:



Bei hoher Glucose-1-Phosphatkonzentration und Überschuß an Glucose-6-Phosphatdehydrogenase wird die Reduktionsrate von NADP zu NADPH nur limitiert von der Konzentration der Phosphoglucomutase im Homogenatüberstand.

Infolge der größeren Aktivität verläuft die Extinktionskurve der Phosphoglucomutasebestimmung steiler als die der Phosphorylasebestimmung. Da die maximale Steigung der Kurve erst nach einigen Minuten erreicht wird, wurde zur Berechnung der Aktivität die Extinktionsänderung im steilsten Kurvenabschnitt abgelesen. In diesem Falle beträgt sie $E_1 = 0,034$. (Abb. 4)

Abb. 4



Alle anderen Werte hatten die gleiche Größe wie bei der Phosphorylasebestimmung, so daß sich nach Einsetzen in Gleichung (6) eine Konzentration an reduziertem NADP ergibt von:

$$c = \frac{0,034 \times 3,0}{1,0 \times 3,3 \times 10^6}$$

$$c = 30,8 \times 10^{-3} \text{ } \mu\text{M}/0,01 \text{ ml}$$

Das entspricht einer Phosphoglucomutaseaktivität in 0,01 ml Homogenatüberstand von:

$$30,8 \text{ mU/mg/Min.}$$

und bezogen auf 1 mg Frischlebergewicht von:

$$\underline{12,3 \text{ mU/mg/Min.}}$$

Die Aktivitäten von Phosphorylase und Phosphoglucomutase im Blut sind nach Untersuchungen von HOLZER (57) und SCHMIDT (117, 118)) so gering, daß auf eine Bestimmung des Restblutgehaltes der Leber verzichtet werden konnte. Der Fehler, der durch den Restblutgehalt bei der Bestimmung der Enzymaktivitäten entsteht, liegt unterhalb der Fehlerbreite der Methodik und fällt somit nicht ins Gewicht.

5. Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte durch die Bestimmung der Mittelwerte, Standardabweichungen, Korrelations- Regressionskoeffizienten und dem t-Test nach Student für nicht gepaarte Daten. (Ausführliche Darstellungen sind in den Arbeiten von KOLLER (72, 73) und CAVALLI-SFORZA (21) zu finden).

a) Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung

Gegeben sind die Meßwerte x_i ; ($i = 1, 2, \dots, n$).

Gesucht wird die Anzahl der $x_i : n$.

$$\text{Mittelwert: } \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Standardabweichung: Die Streuung der Beobachtungswerte um den Mittelwert wird durch die Standardabweichung s angegeben.

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Standardabweichung der Mittelwerte:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

b) Korrelations- und Regressionskoeffizient

Aus den Wertepaaren (x_i, y_i) ($i=1, 2, \dots, n$) soll der Korrelationskoeffizient r sowie die lineare Regressionsfunktion $y = a + bx$ berechnet werden.

Der Korrelationskoeffizient r ist definiert als:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

r liegt zwischen + 1 und - 1. Diese Werte werden nur erreicht, wenn zwischen x und y eine lineare Beziehung besteht. Bei Fehlen eines linearen Zusammenhanges zwischen x und y, d.h. bei gegenseitiger Unabhängigkeit von x und y ist r = 0.

Die lineare Regression beantwortet die Aufgabe der besten Schätzung von y für ein gegebenes x.

$$\text{Es ist: } b = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) (y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

Der t-Test nach Student für nicht gepaarte Daten wurde nach den Angaben der Literatur durchgeführt (Koller (72)).

Ein Ergebnis wird im folgenden als signifikant bezeichnet, wenn die zur errechneten Prüfstatistik gehörende Irrtumswahrscheinlichkeit höchstens 0,01 beträgt.

C. E r g e b n i s s e

Insgesamt wurden die Aktivitäten von Phosphorylase und Phosphoglucomutase in 59 Rattenlebern bestimmt. Von den 59 Tieren waren 30 trächtig und 29 nichtträchtig. In der Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Aktivitäten beider Enzyme bei den einzelnen nichtträchtigen Tieren zusammengefaßt. Die Tabelle 4 zeigt die entsprechenden Werte der trächtigen Ratten und zusätzlich die jeweiligen durchschnittlichen Fötenlängen, die aus dem arithmetischen Mittel der Länge der einzelnen Föten errechnet werden.

Tier	PGM (mU/mg/Min)	PL (mU/mg/Min)
1	13,20	0,565
2	10,05	0,492
3	10,90	0,555
4	11,60	0,460
5	8,54	0,307
6	12,53	0,564
7	9,63	0,274
8	10,90	0,407
9	14,50	0,434
10	12,70	0,637
11	9,72	0,091
12	11,35	0,825
13	7,26	0,488
14	7,65	0,426
15	8,18	0,885
16	4,55	0,630
17	12,70	1,070
18	11,80	0,375
19	14,50	0,375
20	11,80	0,910
21	13,65	0,728
22	12,70	0,885
23	12,70	0,109
24	11,80	0,485
25	16,30	0,880
26	10,90	0,717
27	9,70	0,738
28	12,88	0,908
29	12,00	0,698

Tab. 3: Enzymaktivitäten von Phosphoglucomutase und Phosphorylase in der Leber nicht-trächtiger Ratten.

Die Angaben der Aktivitäten beziehen sich auf 1 mg Leberfrischgewicht des Homogenatüberstandes. Bei den Versuchstieren Nr. 12, 19-23 und 30 war der Eintritt der Trächtigkeit aus dem bereits erfolgten Umbau des Uterus zu ersehen, eine Messung der Fötenlänge infolge des sehr frühen Stadiums der Gestation aber noch nicht möglich.

Tier	PGM (mU/mg/Min)	PL (mU/mg/Min)	Föten- länge (mm)
1	13.30	0.593	47
2	11.35	0.825	27
3	10.90	0.870	44
4	10.73	0.600	29
5	11.89	0.780	28
6	9.20	0.940	31
7	6.36	1.150	19
8	16.35	0.525	24
9	14.50	0.485	24
10	10.90	0.350	41
11	10.00	0.500	35
12	10.00	0.388	n.m.
13	10.90	1.150	44
14	14.20	0.898	39
15	14.90	0.505	26
16	18.15	0.363	43
17	9.45	0.545	22
18	14.00	0.440	32
19	11.40	0.425	18
20	15.00	1.020	n.m.
21	15.45	0.945	n.m.
22	18.30	0.940	n.m.
23	16.30	0.940	n.m.
24	11.83	0.688	24
25	10.90	0.606	29
26	13.60	0.402	23
27	14.55	0.607	13
28	14.55	1.305	33
29	12.40	0.726	10
30	11.30	0.890	n.m.

n.m. = nicht meßbar

Tab. 4: Enzymaktivitäten von Phosphoglucomutase und Phosphorylase in der Leber trächtiger Ratten. Durchschnittliche Kopf-Schwanzlänge der Föten

In den Abbildungen 5 und 6 ist die Verteilung der Ergebnisse der Phosphoglucomutaseaktivität bzw. der Phosphorylaseaktivität bei trächtigen und nichtträchtigen Tieren dargestellt.

PHOSPHOGLUCOMUTASE

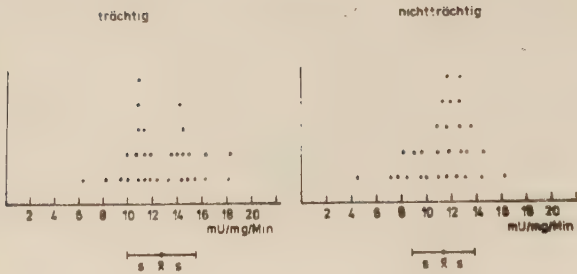


Abb. 5: Verteilung der Phosphoglucomutase-Aktivitäten.
 $\bar{x}$ = Mittelwert, s = Standardabweichung

PHOSPHORYLASE

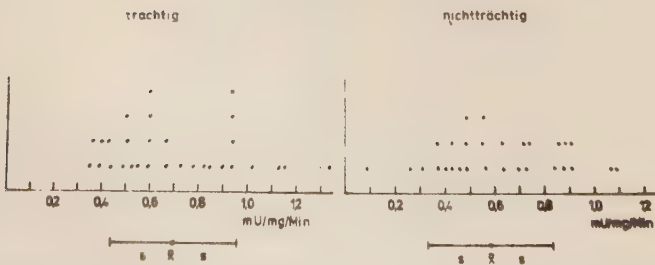


Abb. 6: Verteilung der Phosphorylase-Aktivitäten.
 $\bar{x}$ = Mittelwert, s = Standardabweichung

Eingezeichnet in beiden Darstellungen sind die jeweiligen Mittelwerte und Standardabweichungen. Kennzeichnend für die Verteilungskurven ist die gleichmäßig große Streuung der Ergebnisse über einen Bereich, der bei den trächtigen Tieren für die Phosphoglucomutase von 6,36 mU bis 18,30 mU, für die Phosphorylase von 0,35 mU bis 1,305 mU und bei den nichtträchtigen Tieren für die Phosphoglucomutase von 4,55 mU bis 16,30 mU und für die Phosphorylase von 0,091 mU bis 1,07 mU reicht. Daneben fällt die Doppelgipflichkeit der Kurven bei den trächtigen Tieren auf.

Die Tabelle 5 zeigt zusammenfassend die gefundenen Mittelwerte und Standardabweichungen. Da sowohl im Falle der Phosphoglucomutase als auch der Phosphorylase die Mittelwerte und Standardabweichungen sehr dicht beieinander lagen, konnte ein statistisch gesicherter Unterschied zwischen den Aktivitäten trächtiger und nichtträchtiger Tiere nicht gefunden werden.

	Phosphoglucomutase		Phosphorylase	
	nichtträchtig	trächtig	nichtträchtig	trächtig
Zahl der Tiere	n=29	n=30	n=29	n=30
Mittelwert	$\bar{x}=11,2400$	$\bar{x}=12,7230$	$\bar{x}=0,5841$	$\bar{x}=0,7038$
Standardabweichung	$s=2,4832$ $s_x=0,4611$	$s=2,8138$ $s_x=0,5137$	$s=0,2471$ $s_x=0,0458$	$s=0,2590$ $s_x=0,0472$
t-Test für unverbundene Stichproben	nicht signifikant		nicht signifikant	

Tab.: 5

	Fötenlänge - PGM	Fötenlänge - PL	Fallzahl
Korrelationskoeffizient	r=0,1015	r=0,0576	24
Signifikanz	nicht signifikant		

Tab. 6:

Um eine eventuelle Abhängigkeit der Enzymaktivitäten von der Dauer der Gravidität zu sichern, wurde der Korrelationskoeffizient von Phosphoglucomutase und Phosphorylase zur durchschnittlichen Fötenlänge bestimmt. Das Stadium der Trächtigkeit wurde aus einer von HAGEMANN (48) angegebenen Tabelle ermittelt, wonach die Kopf-Schwanzlänge der Föten ein ungefähres Maß ihres Alters darstellt. Aus Tabelle 6 ist ersichtlich, daß die niedrigen Korrelationskoeffizienten beider Enzyme nicht signifikant von Null verschieden sind. Damit konnte eine Änderung der Enzymaktivitäten im Verlauf der Trächtigkeit statistisch nicht bewiesen werden. (Da bei 6 Tieren die Länge der Föten noch nicht meßbar war (siehe Tabelle 4), wurden bei der Berechnung der Korrelationskoeffizienten nur die Ergebnisse von 24 Tieren berücksichtigt.)

In den Abbildungen 7 und 8 sind die Abhängigkeiten der Enzyme von der Fötenlänge bzw. der Trächtigkeitsdauer dargestellt. Es ist keine Korrelation zu erkennen. Der geringfügige Anstieg der eingezeichneten Regressionsgeraden ist nicht signifikant.

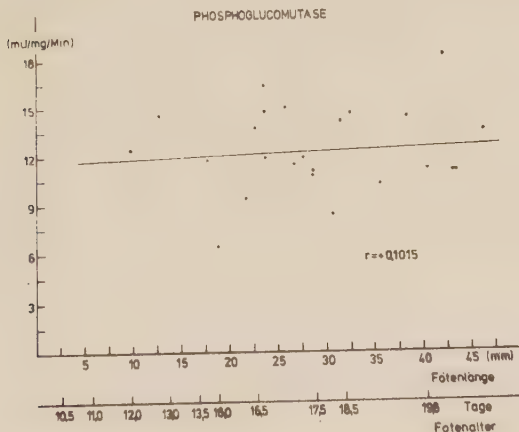


Abb. 7: Abhängigkeit der Phosphoglucomutaseaktivität vom Stadium der Trächtigkeit

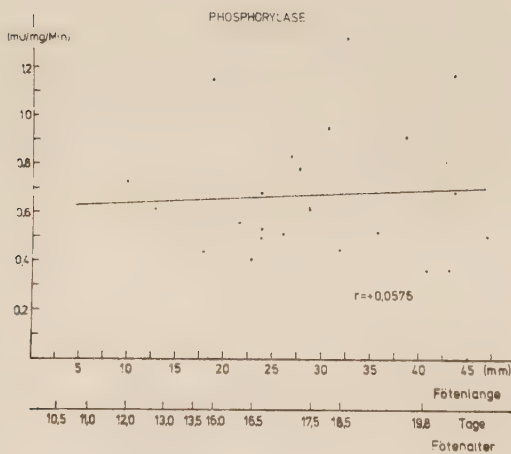


Abb. 8: Abhängigkeit der Phosphorylase-
aktivität vom Stadium der Trächtigkeit

D. Diskussion

Der Vergleich der Enzymaktivitäten von Phosphorylase und Phosphoglucomutase in der Leber trächtiger und nichtträchtiger Ratten ließ keinen signifikanten Unterschied erkennen. Auch die Berechnung der Korrelationskoeffizienten von Enzymaktivität zur Trächtigkeitsdauer brachte kein signifikantes Ergebnis.

Im Falle der Phosphorylase kam BURT (16) bei der Untersuchung eines kleinen Kollektives hungernder Ratten zum gleichen Ergebnis. Bei diesen Versuchen wurden die Tiere nach 15-stündigem Nahrungsentzug am 17. oder 18. Tag der Gestation getötet und die Phosphorylaseaktivität im Leberhomogenat über die Messung des aus Glucose-1-Phosphates freigesetzten anorganischen Phosphates nach FISKE-SUBBAROW (34) bestimmt.

Beide Enzyme spielen im Kohlenhydratstoffwechsel eine wesentliche Rolle, da sie die Verbindung vom Glykogen zum Glucosemetabolismus herstellen.

Glykogen ist ein vorwiegend in Leber und Muskel abgelagertes Polysaccharid, das aus dem Zusammenschluß sehr vieler Glucoseeinheiten in 1,4- α -glykosidischer Bindung entsteht und Ähnlichkeiten mit der Stärkemolekül aufweist. (KARLSON (68)). Die Monosaccharide bilden weitverzweigte Ketten mit meist 10-14 Glucoseres ten als Kettenlänge der Verzweigungen; im Zentrum des Moleküls steht an jedem 3. - 5. Glucoseres t eine Verzweigung, die in 1,6-Bindung angeschlossen wird. (KARLSON (68), STETTEN (126)). Das Molekulargewicht wird für Muskelglykogen mit ca 1 000000 und für Leberglykogen mit ca 5 000000 angegeben, wobei es von Präparat zu Präparat sowohl im Molekulargewicht als auch im Verzweigungsgrad größere Schwankungen gibt. (KARLSON (68)). Glykogen dient im menschlichen und tierischen Organismus als Reservestoff, um im Bedarfsfall zu Glucose abgebaut zu werden. Der Vorteil der Speicherung der Glucose in Form der hochpolymeren Substanz Glykogen liegt

darin, daß die Anhäufung in der Zelle nicht zu erhöhtem osmotischem Druck führt (KARLSON (68)) und daher die Speichermöglichkeit erleichtert und vergrößert ist.

Eine besondere Bedeutung kommt dem Leberglykogen zu, da mit seiner Hilfe der Blutzuckerspiegel über einen gewissen Zeitraum konstant gehalten werden kann. (FÖRSTER-MEHNERT (36)). Die Leber verfügt als einziges Organ neben der Niere über eine spezifische Glucose-6-Phosphatase (SWANSON (133)), die es ermöglicht, daß das aus dem Glykogenabbau entstehende Glucose-6-Phosphat in Form freier Glucose ans Blut abgegeben werden kann. Der Vorrat an Leberglykogen beträgt allerdings nur 50-100 g (FÖRSTER-MEHNERT (36)). Daher sind nach etwa 18-stündigem Fasten die Speicher erschöpft (THORN (135)) und der Glucosebedarf muß aus der Gluconeogenese gedeckt werden. (KREBS (76), FÖRSTER-MEHNERT (36)). Durch diese Form der Glucosegewinnung werden die Depots trotz fehlender Glucosezufuhr von außen teilweise wiedergefüllt (SCHIMASSEK (115)), so daß auch im Hungerzustand die Leber nie vollständig an Glykogen verarmt.

Einen Überblick über den Auf- und Abbau des Glykogens verschafft die Abbildung 9. Ausgangssubstanz der Synthese ist das Glucose-6-Phosphat. Da die Glucoseeinheiten des Glykogens an C_1 verknüpft sind, (KARLSON (68)), wird Glucose-6-Phosphat in einer voll reversiblen Reaktion durch die Phosphoglucosomutase in Glucose-1-Phosphat übergeführt. Im nächsten Schritt wird durch die Bildung von UDP-Glucose das Enzymniveau der Glucose angehoben. Katalysator dieser Reaktion ist die Uridyltransferase. (STETTEN (126)). Die Anknüpfung der aktivierten Glucose in α -glykosidischer Bindung an eine C_4 -Gruppe des als Akzeptor dienenden Polysaccharids (sog. Primer) erfolgt durch die Glykogensynthetase (LELOIR (80)). Dieser Prozess ist aus thermodynamischen Gründen weitgehend irreversibel (FÖRSTER-MEHNERT (36)), ebenso ist ein Einbau von Glucose-1-Phosphat ins Glykogen in Umkehrung der Phosphorylasereaktion nur zu einem geringen Teil möglich, da

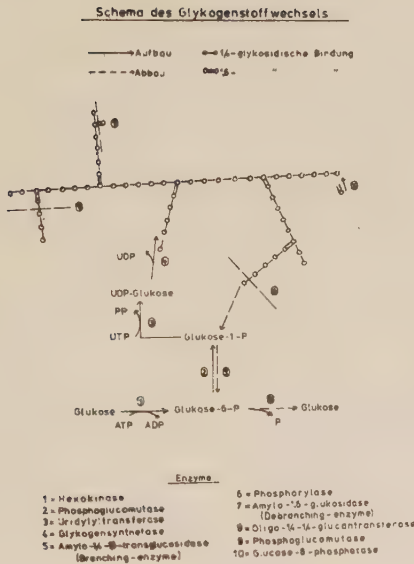


Abb. 9: Glykogenmetabolismus
(Mod. nach HARNACK (52))

die stationäre Glucose-1-Phosphatkonzentration sehr niedrig liegt. (FÖRSTER-MEHNERT (36)). Verantwortlich für die Verzweigungen der Ketten in 1,6-Konfiguration ist schließlich das sog. branching enzyme, (Amylo-1,4-1,6-Transglucosidase) (STETTEN (126)). Insgesamt werden für die Überführung einer freien Glucose in Glykogen 3 energiereiche Phosphatbindungen benötigt, so daß die Reaktionen nur bei Vorhandensein genügend der Mengen ATP bzw. UTP ablaufen können.

Der Abbau des Glykogens beginnt mit der phosphorolytischen Spaltung der 1,4-Bindung durch die Phosphorylase in einer irreversiblen Reaktion (KARLSON (68)). Ein weiteres Enzym-Oligo-1,4-1,4-Glucantransferase- überträgt dann Maltose-trioseeinheiten von den verkürzten Seitenketten auf längere Außenketten, so daß an den Verzweigungsstellen ein in 1,6-Konfiguration stehendes Glucosemolekül zurückbleibt. Diese Bindung wird durch das debranching enzyme (Amylo-1,6-glucosidase) gespalten, wobei freie Glucose entsteht. (STETTEN (126)). Noch nicht endgültig aufgeklärt in ihrer Wirkung ist eine andere Hydrolase, die im Bereich von pH 4 Glucosemoleküle vom Glykogen abtrennt und daher saure Maltase genannt wird. Das Glucose-1-Phosphat wird schließlich von der Phosphoglucumutase in Glucose-6-Phosphat übergeführt, das der weiteren Verwendung im Pentosephosphatzzyklus, Glucuronsäurezyklus, Embden-Meyerhof-Weg und nach Abspaltung des Phosphatrestes durch die Glucose-6-Phosphatase als freie Glucose zur Verfügung steht.

Reguliert wird der Glykogenmetabolismus durch die Konzentrationen der Metabolite Glucose-6-Phosphat und Glykogen und durch die Funktion der beiden Enzyme Glykogensynthetase und Phosphorylase, deren Aktivität durch hormonelle Einflüsse gesteuert wird.

Von ausschlaggebender Bedeutung für den Glykogenstoffwechsel ist die Begrenzung der durch diese zwei Enzyme katalysierten chemischen Reaktion in eine Richtung, d.h. für die Synthetase in Richtung Aufbau, für die Phosphorylase in Richtung Abbau. Sie gehören somit zur Gruppe der sog. Schlüsselenzyme, im Gegensatz zur Phosphoglucumutase, die den Reaktionsablauf in beiden Richtungen katalysiert und zu den bifunktionellen Enzymen gehört.

Als wirksames Prinzip der Kontrolle der Schlüsselenzyme des Glykogenstoffwechsels in der Leber konnten von LARNER (79) und WEBER (140) zwei Mechanismen aufgedeckt werden. Der

Grobeinstellung durch die Konzentrationen der Metabolite Glucose-6-Phosphat und Glykogen ist die Feineinstellung durch hormonelle Einwirkung von Insulin, Adrenalin, Glucagon und Cortison übergeordnet.

Sowohl die Phosphorylase wie die Glykogensynthetase liegen in zwei verschiedenen Formen unterschiedlicher Aktivität vor. Beide werden durch spezifische Kinasen phosphoryliert und dadurch in die andere Form überführt. Der Phosphatrest kann durch spezifische Phosphatasen wieder abgespalten werden. Die Phosphorylase wird durch die Phosphorylierung aktiviert (SUTHERLAND (129, 131), RALL (102, 103), WOSILAIT (154)), die Synthetase dagegen inaktiviert. (LARNER (79)).

Wie aus der Abbildung 10 zu ersehen ist, verläuft die Aktivierung der Phosphorylase in einem kaskadenförmigen Mechanismus. Das in den Zellmembranen lokalisierte Adenylzyklasesystem (DAVOREN (25)) führt zum intrazellulären Anstieg der AMP-3',5'-Konzentration. (SUTHERLAND (131)). Hieraus resultiert eine Vermehrung der Menge an aktiver = phosphorylierter Phosphorylase (RALL (102, 103)), wahrscheinlich durch die Aktivierung der Dephosphophosphorylasekinase (RILEY (109)). Wie SUTHERLAND (131) und CORI (24) nachwiesen, führt dies zu einem vermehrten Glucoseausstoß der Leber und limitiert den Abbau von Glykogen zu Glucose. Die aktive Phosphorylase wird inaktiviert durch die Abspaltung eines Phosphatrestes durch die Phosphorylasephosphatase. (SUTHERLAND (129)), (RALL (103)). Nach LARNER (79) wird durch die Wirkung der Transferase-I-Kinase die sog. I-Form (=Independent) der Glykogensynthetase phosphoryliert zur sog. D-Form (=Dependant), die nach neueren Untersuchungen von MERSMAN (90) zumindest in der Leber inaktiv ist. Auch hier wird die Phosphorylierung durch AMP-3',5' gefördert (LARNER (79)). Die Aktivierung zur I-Form resultiert aus der Abspaltung des Phosphatrestes durch die Transferase-Phosphatase (LARNER (79)).

Kaskadenmechanismus der Phosphorylaseaktivierung

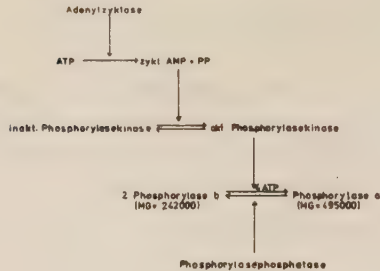


Abb. 10: Phosphorylaseaktivierung
(Mod. nach FÖRSTER-MEHNERT (36))

Der metabolische Kontrolleffekt des Glykogens auf die Synthetase besteht in der Einflußnahme auf die Transferase-Phosphatase. LARNER (79) konnte nachweisen, daß mit steigendem Glykogengehalt die Transferase-Phosphataseaktivität immer mehr zurückgeht, so daß die Synthetase überwiegend in der nicht-aktiven D-Form vorliegt. Die umgekehrte Wirkung haben nach Untersuchungen von LELQIR (80), STEINER (125) und LARNER (79) hohe Glucose-6-Phosphatkonzentrationen. Glucose-6-Phosphat soll sowohl die Aktivität der I-Form anheben als auch die Umwandlung von der inaktiven D zur aktiven I-Form steuern (LARNER (79)), und zwar nicht über Phosphorylierungsvorgänge, sondern als allosterischer Effektor. (FÖRSTER-MEHNERT (36)).

Die Größe des Glykogengehaltes der Leber beeinflusst neben der Synthetase auch die Phosphorylase. Wie LARNER (79) zeigen konnte, stimulieren große Glykogenmengen die Umwandlung von inaktiver zu aktiver Phosphorylase über eine Aktivierung der Phosphorylase-b-kinase. Mit diesen Metaboliten kann die Leber somit den Glykogenhaushalt durch die Einflußnahme auf die Schlüsselenzyme grob regulieren.

Untersuchungen über Veränderungen der Glucose-6-Phosphat und Glykogenkonzentration während der Trächtigkeit von Ratten ergaben für den Zucker eine Verminderung der stationären Konzentrationen (RATHGEN (105)). Im Hinblick auf die Auswirkungen des Glucose-6-Phosphates auf die Synthetaseaktivität sollte der Einfluß dieses Metaboliten in der Gravidität auf das Enzym näher bestimmt werden. Glykogen wurde von mehreren Autoren (HARDING (51), BURT (15), KÖBERLIN und RATHGEN (71)) in unveränderter Konzentration vorgefunden. Die Grobregulierung der Phosphorylase scheint in der Gravidität nicht verändert zu sein.

BURT (15) fand bei gehungerten, trächtigen Tieren gegenüber normalen weder eine Verarmung an Leberglykogen noch eine Veränderung der Glykogensynthese. KÖBERLIN und RATHGEN (71) konnten in neueren Untersuchungen von 25 trächtigen und 32 nichtträchtigen normal ernährter Tiere keine signifikante Änderung im Glykogengehalt der Leber feststellen. (Mittelwert bei den trächtigen Tieren $10,44 \times 10^{-5}$ Mol Glucose/g Frischlebergewicht, bei den normalen Tieren $13,15 \times 10^{-5}$ Mol/g Frischlebergewicht. Standardabweichungen 5,346 bzw. 6,173.). Auch die Bestimmung des Glykogens zu verschiedenen Trächtigkeitsstadien brachte kein statistisch gesichertes Ergebnis. ($r = -0,3998$ bei $n = 25$)! Bei den Versuchen von KÖBERLIN und RATHGEN wurden die Glykogenmengen in den Lebern der Tiere gemessen, die auch zur Aktivitätsbestimmung von Phosphorylase und Phosphoglucomutase Verwendung fanden. Daraus läßt sich der unveränderte Glykogenabbau in der Gestation erkennen.

Neben den Metabolitkonzentrationen sind die Hormonwirkungen von Insulin, Cortisol, Adrenalin und Glucagon für den Glykogenumsatz von Bedeutung. (Siehe Abbildung 11).

Einfluss von Hormonen auf die Glukoneo-
genese und Glykogenolyse

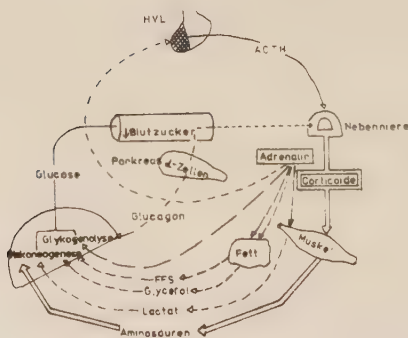


Abb. 11: Einfluß von Hormonen auf die
Gluconeogenese und Glykogenolyse
(Mod. nach KARLSON (67))

Die allgemeinen Wirkungen des Insulins sind die Unterdrückung der Gluconeogenese durch Hemmung der gluconeogenetischen Schlüsselenzyme (WEBER (140, 148)), Verbesserung des Glucoseeinstromes in die Zelle durch Permeabilitätserhöhung (KARLSON (67)), und Förderung der Synthese von Eiweiß, Fett und Glykogen (FÖRSTER-MEHNERT (36), KARLSON (68)).

Der Effekt des Insulins auf den Leberglykogenstoffwechsel wurde in letzter Zeit näher bestimmt. Durch (STEINER (125) und LARNER (79) konnte eine Aktivitätssteigerung der Glykogensynthetase-, durch WALKER (139) eine solche der nur in der Leber vorkommenden Glucokinase nachgewiesen werden. Ebenfalls aktiviert werden die Schlüsselenzyme der Glykolyse (WEBER (140, 149)), während die der Gluconeogenese gehemmt werden. KREBS (76)).

Bei der Art der Insulinwirkung scheint es sich um eine Steigerung bzw. Hemmung der Syntheserate der Schlüsselenzyme zu handeln. Nach KARLSON (67) und WEBER (140) ist die Information über die Synthese solcher Enzyme in sog. funktionellen Geneinheiten der Chromosomen zusammengefaßt, die über ein gemeinsames Operatorgen verfügen. Insulin soll über die Induktion oder Suppression dieses Operatorgens wirken, eine Annahme, die durch die Hemmbarkeit des Vorganges mittels Actinomycin D (STEINER (125)) und den erst nach 1-2 Stunden nach Insulingabe erfolgenden Aktivitätsanstieg (STEINER (125)) untermauert wird.

Der gleiche Wirkungsmechanismus wird dem Cortisol zugeschrieben (WEBER (140, 149)). Die Glykogensynthetase (FRIEDMANN (41), HORN BROOK (58), SIE (119)) und die Schlüsselenzyme der Gluconeogenese (SIE (119), KREBS (76)) zeigen einen Anstieg der Aktivitäten auf Cortisol, während die Glykolyse gebremst wird. (WEBER (140, 147)). Die Phosphorylase wird nach Angaben von LEONARD (81) gehemmt, so daß die Glykogendepots anteigen können. Die Phosphoglucomutase wird nach Untersuchungen von HEITZMANN (54) aktiviert.

Ein direkter Einfluß des Insulins auf die Phosphorylase ist nach Angaben von LARNER (79) und SORENSEN (123) nicht vorhanden. (Über den Einfluß auf AMP-3',5' siehe später). Dagegen wird die Phosphoglucomutase nach Mitteilungen von HASHIMOTO (53) aktiviert. Diesen Befund konnte JOSHI (65) allerdings nur bei vorherigem Hungern der Tiere nachweisen.

Mittels dieser beiden Hormone kann die Glycogensynthese durch Induktion der Synthetase stimuliert werden. (FRIEDMANN (41)). Trotz des erhöhten Insulinspiegels (KALKHOFF (66), BAIRD (4)) und Corticoidspiegels (BURT (14, 15)), scheint dies in der Schwangerschaft nicht der Fall zu sein, wie der unveränderte Glycogengehalt (KÖBERLIN und RATHGEN (71)) der Leber zeigt. Möglicherweise spielt die Insulinresistenz der Gewebe in der Gravidität hierbei eine Rolle. Weitere Untersuchungen der Metabolite und Enzyme des Glycogenaufbaus und deren Beeinflussung durch die Hormone sind daher notwendig.

Eine andere Wirkungsweise auf den Glycogenstoffwechsel haben Adrenalin und Glucagon. Durch die Wechselwirkung zwischen den Hormonen und dem Adenylzyklasesystem (DAVOREN (25)) kommt es zu einem sofort nachweisbaren, intrazellulären Anstieg des AMP-3',5' (SUTHERLAND (130, 131)) und somit über den oben geschilderten Mechanismus zur Phosphorylaseaktivierung und zur vermehrten Glucoseausschüttung der Leber. Dieser Effekt von Adrenalin und Glucagon läuft auch bei hohen Blutzuckerspiegeln ab (SOKAL (121)). Adrenalinblocker heben die Wirkung des Hormons auf (MAYER (89)), während die von Glucagon davon nicht berührt wird (BERTHET (8)). Auch Insulin soll nach neueren Untersuchungen einen Einfluß auf das zyklische AMP-System haben. Die AMP-3',5'-Bildung scheint über die Hemmung der Adenylzyklase gebremst zu werden (SMITH (120)), zusätzlich soll Insulin den Abbau von AMP-3',5' zum AMP durch Stimulierung der Phosphodiesterase fördern. Das zyklische AMP-System hat aber nicht nur Auswirkungen auf die Phosphorylase, sondern wie aus Abbildung 12 erkenntlich, auch auf Enzyme des Glucose- und Fettstoffwechsels und die Insulinsekretion.

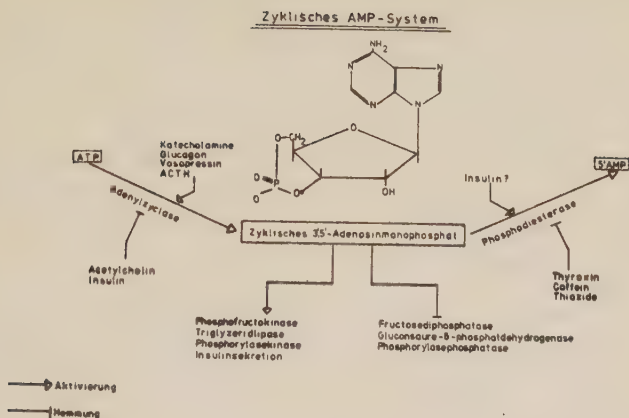


Abb. 12: Zykl. AMP-System
(Mod. nach FÖRSTER-MEHNERT (36))

Hierauf kann nicht näher eingegangen werden. Es sei nur auf die Stimulierung der Gluconeogenese (EXTON (31)) und die Erhöhung der Freien Fettsäuren des Plasmas (KREBS (75)) hingewiesen. Da zwischen Glykogen-, Glucose- und Fettstoffwechsel enge Beziehungen bestehen und in diesem System das zyklische AMP eine wesentliche Rolle spielt, könnte die Bestimmung der stationären Konzentrationen an Adenosin-3',5'-monophosphat während der Trächtigkeit zur weiteren Aufklärung der metabolischen Vorgänge beitragen.

Die Phosphoglucumutase ist für den Glykogenmetabolismus nicht von so großer Bedeutung, da sie zu den bifunktionellen Enzymen gehört. Sie wird für die Glykogenolyse wie für die Glykogenogenese gleichermaßen benötigt und begünstigt keinen der Reaktionsabläufe. (FÖRSTER-MEHNERT (36)). Zudem konnte HASHIMOTO (53) nachweisen, daß die Mutasereaktion in den Zellen von Leber und Muskel nur in geringem Ausmaß abläuft.

Die Schnelligkeit der Gleichgewichtsreaktion hängt im wesentlichen von den stationären Konzentrationen an Glucose-1-Phosphat bzw. 6-Phosphat (RAY (107), HASHIMOTO (53)) und von hormonellen Einflüssen ab (JOSHI (65), HASHIMOTO (53)). Niedrige Metabolitkonzentrationen begünstigen die Mutase-reaktion. Für das Glucose-6-Phosphat konnte RATHGEN (105) einen deutlichen Abfall in der Gravidität ermitteln; entsprechende Untersuchungen über das Glucose-1-Phosphat liegen bis jetzt noch nicht vor.

Über die hormonelle Beeinflußbarkeit gibt es in der Literatur widersprüchliche Aussagen: Nach HASHIMOTO (53) ist Insulin ein Aktivator, Adrenalin ein Inhibitor des Enzyms. Dagegen wirkten sowohl Insulin als auch Adrenalin bei den Untersuchungen von JOSHI (65) stimulierend. Cortisol scheint das Ferment ebenfalls zu aktivieren. Über den Wirkungsmechanismus bestehen noch weitgehend Unklarheiten. (HASHIMOTO (53)). Um nähere Aussagen über die Phosphoglucomutaseaktivität in der Schwangerschaft machen zu können, sollten daher weitere Untersuchungen über die Konzentrationen an Glucose-1-Phosphat und die Einflüsse der genannten Hormone auf das Enzym durchgeführt werden.

Erhöhter Zuckerbedarf der Muskulatur führt nach Angaben von BERINGER (7) zum Leberglykogenschwund. HOLMES (56) berichtet über eine Zunahme der Phosphorylaseaktivität in Glucose-frei inkubierten Diaphragmen. THORN (134) bestimmte den Glykogengehalt von Leber und Muskulatur bei normalen und bei einem gewissen Arbeitspensum unterworfenen Ratten. Dabei stellte sich bei gleichbleibenden bis leicht erhöhten Muskelglykogen ein deutlicher Abfall des Leberglykogens in der zweiten Gruppe heraus. Es wäre interessant zu erfahren, wie dieser Regelkreis sich in der Gravidität darstellt.

Die Höhe des Blutzuckerspiegels hat enge Beziehungen zum Glykogenhaushalt der Leber. Ein Blutzuckerabfall und damit eine Verarmung der Peripherie an Glucose wird sofort mit einer vermehrten Ausschüttung von Adrenalin und Glucagon beantwortet.

(WEBER (140)) UNGER (137)). Die Folge ist neben dem Anstieg des zyklischen AMP (SMITH (120)) und der damit verbundenen Phosphorylaseaktivierung und Glykogenolyse eine gleichzeitige Erhöhung der Freien Fettsäuren im Plasma (KREBS (75)) aus dem Fettgewebe und eine durch BEWSHER (9) gefundene Aktivierung der Leberlipase durch Glucagon. Durch die Glykogenolyse wird das Enzym Glucose-6-Phosphatase mit seinem Substrat gesättigt. - nach WEBER (140) eine Form der Steigerung von Enzymaktivitäten. - zusätzlich werden die Schlüsselenzyme der Glykolyse - Glucokinase, Phosphofructokinase, Pyruvatkinase (WEBER (146)) - durch die Erhöhung der FFS gehemmt, so daß die Abgabe freier Glucose von der Leber ans Blut gefördert wird. Der Vorrat der Leber an Glykogen ist nach Mitteilungen von THORN (136) aber auf 1-2 Tage begrenzt, so daß nur kurzfristig ein Mehr an Glucose aus diesem Depot gedeckt werden kann.

Bei längerdauerndem Bedarf wird der Stoffwechsel in der Leber umgeschaltet auf Glucosebildung aus Eiweiß. (THORN (136), KREBS (76)). Der Nettobetrag der Gluconeogenese aus Aminosäuren, Pyruvat und Lactat beläuft sich nach Untersuchungen von KREBS (76) bei niedrigem Kohlenhydratgehalt der Nahrung auf rund 100 g/Tag. Dem Leberglykogen selbst kommt somit die Funktion eines Depots zu, mit dessen Hilfe lebensbedrohliche Zustände infolge Zuckermangel schnell ausgeglichen werden können. Insbesondere das ZNS ist auf eine gleichbleibende Glucosezufuhr angewiesen, da es nur aus Glucose Energie gewinnen kann. Daher dürfte auch die unveränderte Aktivität von Phosphorylase und Phosphoglucomutase in der Gravidität trotz des verstärkten Zuckerbedarfs als eine Maßnahme des Organismus zu werten sein, diese lebenswichtigen Reservestoffe unangestastet zu lassen.

Die Glucosespiegel von Leber und Blut sind während der Gestation erheblich verändert. (RATHGEN (105), BURT (12), AMANO (1)). Die Ergebnisse von RATHGEN (105) zeigen ein Absinken der Glucosekonzentration des Blutes um 35 % und der Leber um 50 % bei gleichbleibendem Stickstoff-Proteingehalt

der Leberhomogenate trächtiger Tiere. (BURT (18)). Der Beginn der Schwangerschaftshypoglykämie konnte von AMANO (1) bei Ratten vom 5. Tag der Gestation an nachgewiesen werden. 48-stündiges Fasten führt bei Schwangeren zu erheblichen Blutzuckerabnahmen, die größer sind als bei Nichtgraviden, und bei Hyperemesis gravidarum sind schon nach wenigen Hungertagen Azetonkörper im Harn nachweisbar (zitiert nach FRIEDBERG (40)). Die frühere Annahme der Leberglykogenverarmung als Ursache konnte durch die Befunde von KÖBERLIN (71) und HARDING (51) an Ratten sowie durch die Ergebnisse von Leberbiopsien schwangerer Frauen (zitiert nach FRIEDBERG (40)) widerlegt werden. Auch die Annahme von BURT (16), daß die in der Gestation zu findende Verminderung der Glucose-6-Phosphataseaktivität (BURT (18)), RATHGEN (105)) ursächlich für die Hypoglykämie infrage kommt, ist sicherlich nicht der alleinige Grund. Eine gewisse Bedeutung könnte dem kontinuierlichen Verlust von Glucose über die Plazenta an den Föten zukommen (BLEICHER (10)), da die Plazenta für Glucose und Aminosäuren gut durchgängig ist (HAGEMANN (48)).

Nach neuesten Untersuchungen RATHGENs (105) ist für das Verhalten des Blutzuckers die deutliche Einschränkung der Gluconeogenese in der Schwangerschaft verantwortlich zu machen, erkennbar an der Verminderung der Glucoseabgabe der Leber ans Blut um 60 %. Die Gluconeogenese der Leber und Niere (KREBS (76, 77)) spielt für die Bereitstellung der Glucose eine wichtigere Rolle als die Glykolyse. Daher erscheint es wenig sinnvoll, über eine Erhöhung der Kohlenhydratzufuhr und Glykogendepots den Gefahren der Schwangerschaftshypoglykämie entgegenwirken zu wollen, da diese Depots und die Enzyme, die sie mobilisieren, in der Gravidität offenbar keinen Veränderungen unterliegen. Dagegen könnte eine ausgewogene Eiweißzufuhr über eine Stimulierung der Gluconeogenese die Situation vielleicht verbessern.

Die Schwangerschaft hat nach Ansicht vieler Untersucher einen diabetogenen Effekt, insofern, als ein latenter Diabetes zum klinisch manifesten wird oder eine diabetische Stoffwechsellage auftritt, die sich nach der Geburt wieder normalisiert. BAIRD (4)). So ergibt der orale Glucosetoleranztest (LUND (85), HAGEN (49), WILKERSON (153)) in ca 20 %, der intravenöse (GRAVES (46)) Test allerdings nur in 5-15 % aller Schwangerschaften ein pathologisches Ergebnis. Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Bestimmung der Glucosetoleranzkurve von sehr vielen Faktoren abhängig ist, wie Art der Glucosezufuhr, Alter, Gewicht, Nahrung, Darmresorption, Nierenfunktion (BAIRD (4)). Der prozentual höhere Anteil der pathologischen Kurven bei oraler Zuckergabe wird auf die veränderten Resorptionsverhältnisse des Darmes zurückgeführt (BAIRD (4)). Daher wird von LIND (83) die exakte Reproduzierbarkeit des oralen Glucosetoleranztestes bei ein und derselben Person angezweifelt. Die Gefahren einer diabetischen Schwangerschaft liegen in der Geburt von "Big Babies", erhöhter perinataler Mortalität und signifikant größeren Mißbildungsquoten (PATON (98)).

Das Verhalten der Metabolite und Enzyme des Glucosestoffwechsels weist in vielen Fällen während der Gestation Ähnlichkeiten mit dem Stoffwechsel des Diabetes mellitus und des Hungerzustandes auf (RATHGEN (105)). So ist die stationäre Konzentration an Glucose-6-Phosphat sowohl beim experimenteller Diabetes (BÜCHER (11)) als auch bei trächtigen Ratten herabgesetzt (RATHGEN (105)). Die Glucose-6-Phosphatdehydrogenaseaktivität fällt im Hunger (GLOCK (45)), bei alloxandibetischer Ratten (GLOCK (44), ASHMORE (2)) und während der Gestation (RATHGEN (105)) deutlich ab.

Der Glykogenstoffwechsel ist zwar im Diabetes ähnlichen Veränderungen unterworfen wie im Hungerzustand, bleibt aber während der Gestation weitgehend unverändert. Die Glucose-6-Phosphataseaktivität ist nach Angaben von ASHMORE (3), BURT (18) und LANGDON (78) bei Ratten mit Alloxandibetis erhöht,

im Nahrungsentzug berichtet WEBER (143) über eine Abnahme. Bei trächtigen Ratten fanden RATHGEN (105) und BURT (18) eine deutlich verminderte Aktivität. Die Aussagen über den Glykogengehalt der diabetischen Leber differieren: Nach FÖRSTER-MEHNERT (36) ist er bei alloxanbehandelten Tieren wie bei Diabetikern im allgemeinen normal. SORENSEN (123) konnte dagegen eine Glykogenverarmung in Verbindung mit einer verminderten Glykogensynthese in der Leber diabetischer Ratten feststellen. ASHMORE (2) kam zum gleichen Ergebnis. Dieser Glykogenschwund der diabetischen Leber wird als Grund für den nachweisbaren Aktivitätsverlust von Phosphorylase (SORENSEN (123)) und Phosphoglucomutase (FITCH (35)) angesehen.

Im Hungerzustand findet sich immer eine deutliche Glykogenverarmung der Leber. (SORENSEN (123), BURT (15), WEBER (142)). Die Phosphorylaseaktivität ist ebenfalls vermindert (SORENSEN (122)), und zwar proportional zur Dauer des Fastens (NIEMEYER (94)), so daß nach 24-stündiger Nahrungskarenz nunmehr etwa die Hälfte der ursprünglichen Aktivität feststellbar ist. (REITER (108)). Auch die Phosphoglucomutase läßt nach Angaben von WEBER (142, 143) und JOSHI (65) ein 50 %iges Absinken ihrer Aktivität erkennen. Dagegen ist während der Gestation von Ratten nach den vorliegenden Befunden der Glykogengehalt und die Aktivität der abbauenden Enzyme normal. Ein indirekter Hinweis für die Richtigkeit dieser Ergebnisse ist die von BURT (17) nachgewiesene hyperglykämische Reaktion Gravidar auf die Gabe von Glucagon. Dieser Effekt tritt bei Glykogenschwund der Leber nicht auf. (FÖRSTER-MEHNERT (36)).

Neben dem bei Graviden gegenüber Nichtgraviden abgesunkenen Blutzuckerspiegel findet sich als Charakteristikum der normalen Gravidität eine Erhöhung der FFS und des Insulinspiegels des Plasmas. Der Anstieg des Plasmainsulins ist sowohl mit biologischen (WELSH (151)) als auch mit immunologischen (KALKHOFF (66), PICARD (100)) Methoden nachweisbar. Schon 1932 stellte ROSENLOECHER (110) die dazu passende beta-Zellhyperplasie des Pankreas in der Schwangerschaft fest und

LOPEZ-QUIJADA (84) wies auf eine Abnahme von extrahierbarem Pankreasinsulin zusammen mit einer beta-Zelldegranulation hin.

Als Ursachen der Erhöhung des Insulinspiegels werden mehrere Mechanismen diskutiert: Anstieg der Insulinantagonisten wie Wachstumshormon, Freie Fettsäuren, Corticoide (BAIRD (4)), Herabsetzung der Insulinempfindlichkeit der peripheren Gewebe durch die Corticoide (BURT (13, 14)), verstärkter Insulinabbau durch die Plazenta (FREINKEL (39)) und vor allem in neuerer Zeit die Produktion des sog. "human placental lactogen" durch die Plazenta (KALKHOFF (66), PICARD (100), GREENWOOD (47)). Dieser von GREENWOOD (47) entdeckte und von KALKHOFF (66) und PICARD (100) näher untersuchte Stoff hat eine ähnliche Wirkung wie Somatotropin. Nach PICARD (100) ist das HPL verantwortlich für den in der Schwangerschaft stark erhöhten Gehalt an Freien Fettsäuren, die ihrerseits neben den Corticoiden (BURT (14)) die verminderte Glucosetoleranz der Gewebe verursachen sollen. Insulin ist somit seiner Stoffwechselwirkung beraubt und bleibt länger und in höheren Konzentrationen im Kreislauf. Nach den Untersuchungen von KALKHOFF (66) normalisiert sich der Plasmainsulinspiegel und die Glucosetoleranz in der Mehrzahl der Fälle sofort nach der Geburt mit dem raschen Verschwinden des HPL.

Freie Fettsäuren haben im Kohlenhydratstoffwechsel einen gluconeogenetischen Effekt, der durch die in der Schwangerschaft bestehende verstärkte Corticoidproduktion (BURT (13, 14)) noch ausgeprägter sein dürfte, denn beide Stoffe stimulieren die Schlüsselenzyme der Gluconeogenese. Dazu entfällt die Hemmwirkung des Insulins auf diese Fermente wegen der in der Gravidität existierender Insulinresistenz peripherer Gewebe. (BURT (13, 14)). Der mütterliche Organismus könnte auf diese Weise vermehrt Glucose aus der Gluconeogenese gewinnen und sie dem Föten zukommen lassen, der ganz auf Kohlenhydrate als Energiequelle angewiesen ist (BAIRD (4,5)). Somit bräuchten die Glykogenreserven nicht angegriffen zu werden.

Diesen Überlegungen stehen die Befunde RATHGENs (105) entgegen, der in der Schwangerschaft ein Nachlassen der Gluconeogenese feststellte. Hier müssen weitere Untersuchungen Klarheit bringen.

Nach Meinung vieler Kliniker sind die Stoffwechselveränderungen der Gravidität nicht als pathologisch anzusehen, sondern als physiologische Ausweitung der Streubreite der Normalwerte. Unter diesem Gesichtspunkt könnten auch die Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels gesehen werden. Es wäre aber von erheblichem klinischen Interesse, diese Normwerte in der Schwangerschaft genauer zu untersuchen und exakt festzulegen, um auf jeden Fall die krankhaften Zustände frühzeitig zu erkennen. Das bedeutet für den Kohlenhydrathaushalt im speziellen daß man in Anbetracht des diabetogenen Effektes der Gravidität und der damit verbundenen erheblichen Gefahren für Mutter und Kind durch großangelegte Feldversuche mit unausgesuchten Gruppen die Normalwerte für die Glucosetoleranzteste neu überprüfen sollte.

F. Zusammenfassung

Die Aktivitäten von Phosphorylase und Phosphoglucomutase wurden in der Leber normaler und trächtiger Ratten untersucht.

Bei statistischer Auswertung der Untersuchungen ließen sich keine signifikant unterschiedlichen Aktivitäten bei trächtigen und Normaltieren nachweisen; ebenso änderten sich auch im Verlauf der Trächtigkeit die Enzymaktivitäten nicht.

F. L i t e r a t u r

1. AMANO, Y.: Changes of the levels of blood glucose during pregnancy in the rat. *Jap. J. Pharmacol.* 17, 105-114 (1967).
2. ASHMORE, J.,
CAHILL, G.T.,
HASTINGS, A.B.,
ZOTTU, S.: Studies on carbohydrate metabolism in rat liver slices. VIII. Effect of ions and hormones on pathways of glucose-6-phosphate metabolism. *J. biol. Chem.* 224, 225-235 (1957).
3. ASHMORE, J.,
HASTINGS, A.B.,
NESBETT, F.B.: The effect of diabetes and fasting on liver glucose-6-phosphatase. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 40, 637-678 (1954).
4. BAIRD, J.D.: Some aspects of carbohydrate metabolism in pregnancy with special reference to the energy metabolism and hormonal status of the infant of the diabetic woman and the diabetogenic effect of pregnancy. *J. Endocr.* 44, 139-172 (1969).
5. BAIRD, J.D.,
FARQUHAR, J.W.: Insulin secreting capacity in newborn infants of normal and diabetic woman. *Lancet* *i*, 71-74 (1962).
6. BERGMAYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse. 2. Auflage. Band I. S. 764, Weinheim 1971.
7. BERINGER, A.: Regulation of metabolism in liver. *Verhandl. Deutsch. Gesellsch. Inn. Med. Kong.* 59, 344-348 (1953).
8. BERTHET, J.: Action du glucagon et de l'adrenaline sur le metabolisme des lipides dans le tissu hepaticque. *Proc. 4th Int. Congr. Biochem.* 17, 107 (1960).

9. BEWSHER, P.D.,
ASHMORE, J.: Ketogenic and lipolytic effects of glucagon on liver.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 24, 431-436 (1966).

10. BLEICHER, S.J.,
O'SULLIVAN, J.B.,
FREINKEL, N.: Carbohydrate metabolism in pregnancy. V. The interrelation of glucose, insulin and free fatty acids in late pregnancy and post partum.
New.Engl. J.Med. 271, 866-872 (1964).

11. BÜCHER, Th.: Intermediärstoffwechsel der Glucose unter zellphysiologischem Aspekt.
7. Symp.Dtsch.Ges.Endokrinologie (H.Nowakowski) Berlin 1961.

12. BURT, R.L.: Peripheral utilization of glucose in pregnancy and the puerperim.
Obstet.Gynec.N.Y.4, 58-66 (1954).

13. BURT, R.L.: Peripheral utilization of glucose in pregnancy. III. Insulin tolerance.
Obstet.Gynec. N.Y. 7, 658-666 (1956).

14. BURT, R.L.: Carbohydrate metabolism in pregnancy. Clinical obstetrics and gynaecology, vol. III, S.310, New York (1960).

15. BURT, R.L.,
KIMEL, C.A.,
WINSTON-SALEM, N.C.: Carbohydrate metabolism in pregnancy. Hepatic glycogen synthesis in the rat.
Am. J.Obstet.and Gynec. 74, 295-299 (1957).

16. BURT, R.L.,
PULLIAM, R.P.: Liver phosphorylase activity in pregnancy.
Am. J.Obstet. and Gynec. 84, 764-766 (1962).

17. BURT, R.L.,
WINSTON-SALEM, N.C.,
JULIAN, N.: Carbohydrate metabolism in pregnancy. Observations on glucagon (hyperglycemic-glycogenolytic factor) in normal pregnancy and the puerperim.
Am. J.Obstet. and Gynec. 74, 551-558 (1957).

18. BURT, R.L.,
WINSTON-SALEM, N.C.,
JULIAN, N.:
Liver glucose-6-phosphatase activity in pregnancy. A study utilizing albino rats.
Am.J.Obstet. and Gynec. 77, 6-9 (1959).
19. CAMPBELL, P.N.,
CREASY, N.H.,
PARR, C.W.:
The specificity of muscle phosphorylase.
Biochem. J. 52, 448-452 (1952).
20. CARRINGTON, E.R.,
Mc WILLIAMS, N.B.:
Investigations of serum insulin activity during pregnancy in normal and sub-clinically diabetic mothers.
Am. J. Obstet. and Gynec. 96, 922-927 (1966).
21. CAVALLI-SFORZA:
Grundbegriffe der Biometrie.
Thieme-Verlag - Stuttgart 1964.
22. CHAIKOFF, I.L.:
Metabolic blocks in carbohydrate metabolism in diabetes.
Harvey Lectures 1951, 52, 47, 99-125 (1953).
23. CONRAD, V.:
Mésure de l'assimilation du glucose; Bases theoretiques et applications cliniques.
Acta Gastro-Ent. Belg. 18, 655-665 (1955)
24. CORI, C.F.:
Glycogen breakdown and synthesis in animal tissues.
Endocrinology 26, 285-298 (1940).
25. DAVOREN, P.R.,
SUTHERLAND, E.W.:
The cellular location of adenylcyclase in the pigeon erythrocyte.
J. Biol. Chem. 238, 3016-3023 (1963).
26. DOMSCHKE, W.,
DOMAGK, G.F.:
Die Hemmbarkeit der Glucose-6-phosphat-dehydrogenase und anderer Enzyme des Zuckerstoffwechsels durch Pyridoxal-5-phosphat.
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 350, 1111-1116 (1969).

27. DUVE, de Ch.,
BERTHET, J.,
HERS, G.H.,
DUPRET, L.:
Le systeme hexose phosphatasique,
existence d'une glucose-6-phosphatase
specifique dans le foie.
Bull. Soc. Chim. Biol. 31, 1242 (1949).
28. DUYNE, Ch.,
HAREL, R.J.:
The plasma lipids in pregnancy and in
the newborn. In: Physiology of
pregnancy.
Hoeber, New York 1960
29. EISENSTEIN, A.B.,
STRACK, J.:
Effects of glucagon on carbohydrate
synthesis and enzyme activity in rat
liver.
Endocrinology 83, 1337-1348 (1968).
30. ELLIS, S.:
The metabolic effects of epinephrine and
related amindes.
Pharmacol. Rev. 8, 485-562 (1956).
31. EXTON, J.H.,
PARK, C.R.:
The stimulation of gluconeogenesis from
lactate by epinephrine, glucagon, and
cyclic 3,5-adenylate in the perfused
rat liver.
Pharmacol. Rev. 18, 181-188 (1966).
32. EXTON, J.H.,
PARK, C.R.:
Gluconeogenesis in liver: effects of
adrenalectomy, cortisol, and glucagon.
Fed. Proc. 24, 537 (1965).
33. EYER, P.,
PETTE, D.:
Purification and properties of glucose
-1-phosphate kinase.
Life Sciences 6, 191-199 (1967).
34. FISKE, C.H.,
SUBBAROW, Y.:
The colorimetric determination of phos-
phorus.
J. Biol. Chem. 66, 375 (1925).
35. FITCH, W.M.,
HILL, R.,
CHAIKOFF, I.L.:
Hepatic glycolytic enzyme activities in
the alloxan-diabetic rat: Response to
glucose and fructose feeding!
J. Biol. Chem. 234, 2811-2813 (1959).

36. FÖRSTER, H.,
MEHNERT, H.: Kohlenhydratstoffwechsel.
In: Klinische Pathophysiologie,
Hg. W. Siegenthaler, Thieme Verlag,
Stuttgart 1970.
37. FREEDLAND, R.A.,
HARPER, A.E.: Metabolic adaptions in higher animals.
II. Changes with time in the adaptive
response of glucose-6-phosphatase.
J. Biol. Chem. 230, 833-841 (1958).
38. FREINKEL, N.: The effect of pregnancy on insulin
homeostasis.
Diabetes 13, 260-267 (1964).
39. FREINKEL, N.,
GOODNER, C.J.: Carbohydrate metabolism in pregnancy.
I. Metabolism of insulin by human
placental tissue.
J. Clin. Invest. 39, 116-131 (1960).
40. FRIEDBERG, V.: Stoffwechsel in der Schwangerschaft.
In: Gynäkologie und Geburtshilfe.
Hg. O.Käser, V.Friedberg, K. G. Ober,
J. Zander. Band II, S. 190, Thieme Verla
-Stuttgart 1967.
41. FRIEDMANN, B.,
GOODMANN, E.H.,
Weinhouse, S.: Effects of glucose feeding, cortisol,
and insulin on liver glycogen synthesis
in the rat.
Endocrinology 81, 486-496 (1967).
42. FRIEDMANN, N.,
EXTON, J.H.,
PARK, C.R.: Interaction of adrenal steroids and
glucagon on gluconeogenesis in perfused
rat liver.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 29,
113- (1967).
43. GASPARO, de, M.,
MALHERBE, C.,
THOMAS, K.,
HOET, J.J.: Insulin levels during pregnancy.
Vith Congr.Internat.Diabetes Federation
Stockholm 1967. Amsterdam: Exerpta
Medica Foundation International Congress
Series, Nr. 140, Abstracta Nr.133, S.52
(1967).
44. GLOCK, G.E.,
Mc LEAN, P.: The hexosemonophosphate oxidative
pathway in alloxan diabetes.
Biochim. Biophys. Acta 16, 446 (1955).

45. GLOCK, G.E.,
Mc LEAN, P.: A preliminary investigation of the hormonal control of the hexosemono-phosphate oxidative pathway. Biochem. J. 61, 390-397 (1955).
46. GRAVES, W.K.,
NEFF, R.,
MARK, P.: Altered glucose metabolism in pregnancy. Am.J. Obstet. and Gynec. 98, 602-606 (1967).
47. GREENWOOD, F.C.,
HUNTER, W.M.,
KLOPPER, A.: Assay of human growth hormon in pregnancy, at parturation, and in lactation: detection of growth-hormone-like substance from placenta. Brit. M.J. 1, 22-24 (1964).
48. HAGEMANN, E.,
SCHMIDT, G.: Ratte und Maus. Walter de Gruyter Verlag, Berlin 1960.
49. HAGEN, A.: Blood sugar findings during pregnancy in normals and possibly prediabetics. Diabetes 10, 438-444 (1961).
50. HAGERMANN, D.D.,
VILLEE, C.H.: Transport function of placenta. Physiol. Rev. 40, 313-330 (1960).
51. HARDING, H.R.,
ROSEN, F.,
NICHOL, C.A.: Effects of pregnancy on several cortisol responsive enzymes in rat liver. Amer. J. Physiol. 211, 1361-1365 (1966).
52. HARNACK, G.A., von: Kinderheilkunde. 2. Auflage, Springer Verlag, Berlin 1974.
53. HASHIMOTO, T.: Hormonal control of phosphoglucomutase activity. Biochem. Biophys. Res. Commun. 27, 368-371 (1967).
54. HEITZMANN, R.J.: Hormonal induction of glucose-6-phosphate metabolizing enzymes in the mammary gland of the rabbit. J. Endocrinology 41, XVI-XVII (1968).
55. HESTRIN, S.: Action pattern of crystalline muscle phosphorylase. J. Biol. Chem. 179, 943-955 (1949).

56. HOLMES, P.A.,
MANSOUR, T.E.:
Glucose as a regulator of glycogen phosphorylase in rat diaphragm. I. Effect of glucose and related compounds on phosphorylase and glycogen levels. Biochim. Biophys. Acta 156, 266-274 (1968).
57. HOLZER, H.,
SEDLMAYER, G.,
KIESE, M.:
Bestimmung des Blutgehaltes von Leberproben zur Korrektur biochemischer Analysen. Biochem. Z. 328, 176-186 (1956).
58. HORN BROOK, K.R.,
BURCH, H.B.,
LOWRY, O.H.:
Changes in substrate levels in liver during glycogen synthesis induced by lactate and hydrocortisone. Biochem. Biophys. Res. Commun. 18, 206-211 (1965).
59. HULSMANN, W.C.,
OEI, T.L.,
CREVELD, S.:
Phosphorylase activity in leucocytes from patients with glycogen storage disease. Lancet, Vol. II., 581-583 (1961).
60. ILLINGWORTH, B.,
JANSZ, H.S.,
BROWN, J.H.,
CORI, C.F.:
Observations on the function of pyridoxal-5-phosphate in phosphorylase. Proc. Nat. Aca. Sci. 44, 1180-1191 (1958).
61. ISLES, T.E.,
FARQUHAR, J.W.:
The effect of endogenous antibody on insulin assay in the newborn infants of diabetic mothers. Pediat. Res. 1, 110-115 (1967).
62. JACKSON, W.P.U.:
Diabetes and pregnancy. Acta Diabetologica Catina 4, I 1-36, II 153-195, II 317-348, IV 507-528 (1967).
63. JOHNSON, G.D.,
BONSNES, B.W.:
The intravenous glucose tolerance test in pregnancy. J. Clin. Invest. 27, 745-748 (1948).

64. JOSHI, G.J.,
HANDLER, P.:
Phosphoglucumutase. VI. Purification
and properties of phosphoglucumutase
from human muscle.
J. Biol. Chem. 224, 3343-3351 (1969).
65. JOSHI, J. G.,
HOOPER, J.,
KUWAKI, T.,
SAKURADA, T.,
SWANSON, J.R.,
HANDLER, P.:
Phosphoglucumutase. V. Multiple forms
of phosphoglucumutase.
Proc.Nat.Acad.Sci. 57, 1482-1489 (1967).
66. KALKHOFF, R.K.,
SCHALCH, D.S.,
WALKER, J.L.,
BECK, P.,
KIPNIS, D.M.,
DAUGHADAY, W.H.:
Diabetogenic factors associated with
pregnancy.
Trans.Ass.Amer. Physicians 77, 270-280
(1964).
67. KARLSON, P.:
Biochemische Wirkungsweise der Hormone.
Dtsch.Med.Wschr. 86, 668-674 (1961).
68. KARLSON, P.:
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
6. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart
1967.
69. KELLER, P.J.,
CORI, G.T.:
Enzymic conversion of phosphorylase a
to phosphorylase b.
Biochim. Biophys. Acta 12, 235-238
(1953).
70. KENT, A.B.,
KREBS, E.G.,
FISCHER, E.H.:
Properties of crystalline phosphorylase
b.
J.Biol.Chem. 232, 549-558 (1958).
71. KOEBERLIN, H.,
RATHGEN, G.H.:
Glykogengehalt der Leber bei trächtigen
und nichtträchtigen Tieren.
Unveröffentliche Versuche.
72. KOLLER, S.:
Neue graphische Tafeln zur Beurteilung
statistischer Zahlen.
4. Auflage. Steinkopf Verlag,
Darmstadt 1969.

73. KOLLER, S.:
Statistische Auswertungen der Versuchsergebnisse. In: Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse.
Hg. Hoppe-Seyler, Thierfelder, Springer, S. 931, Berlin 1955.
74. KREBS, E.G.,
FISCHER, E.H.:
Molecular properties and transformations of glycogen phosphorylase in animal tissues.
Advances Enzymol. 24, 263-290 (1963).
75. KREBS, H.A.:
The regulation of the release of ketone bodies by the liver.
Advances Enzym.Regulat. 4, 339-353 (1966).
76. KREBS, H.A.:
Gluconeogenesis.
Proc. Roy. Soc. Ser. B 159, 545-564 (1964).
77. KREBS, H.A.,
SPEAKE, R.N.,
HEMS, R.:
Acceleration of renal gluconeogenesis by ketone bodies and fatty acids.
Biochem. J. 94, 712-720 (1965).
78. LANGDON, R.G.,
WEAKLEY, D.R.:
The influence of hormonal factors and of diet upon hepatic glucose-6-phosphatase activity.
J. Biol. Chem. 214, 167-174 (1955).
79. LARNER, J.:
Hormonal and nonhormonal control of glycogen metabolism.
Trans. N.Y. Acad.Sci. 29, 192-209 (1966)
80. LELOIR, L.F.,
GOLDENBERG, S.H.:
Synthesis of glycogen from uridine diphosphate glucose in liver.
J. Biol.Chem. 235, 919-923 (1960).
81. LEONARD, S.L.:
The effect of hormones on phosphorylase activity in skeletal muscle.
Endocrinology 60, 619-624 (1956).

82. LEVINE, R.A.: Cardiovascular and metabolic effects of adenosine-3',5'-monophosphate in man. J.Clin.Invest. 44, 1068 (1965).
83. LIND, T.,
CHEYNE, G.A.,
BILLIWICZ, C.Z.,
FAIRWEATHER, D.V.I.: Observations on the oral glucose tolerance test in pregnancy. J. Obstet.Gynaec. Br.Commonw. 75, 540-545 (1968).
84. LOPEZ-QUIJADA, R.,
GOMEZ-ACABO, J.,
RODERIQUEZ-
CANDELA, J. L.: Decrease of rabbit pancreas insulin in late pregnancy. Vith Congr.Int.Diabetes Federation, Stockholm, Abstract 145, S.56, (1967).
85. LUND, C.J.,
WESSE, W.H.: Glucose tolerance and excessively large babies in nondiabetic mothers. Am.J.Obstet. Gynec. 65, 815-832 (1953).
86. MADISON, L.L.,
MEBANE, D.,
UNGER, R.H.,
LOCHNER, A.: Hypoglycemic action of ketones. II. Evidence for stimulatory feedback of ketones on pancreatic beta cells. J.Clin.Invest. 43, 408-415 (1964).
87. MADSEN, N.B.,
CORI, C.F.: The binding of adenylic acid by muscle phosphorylase. J. Biol. Chem. 224, 883-908 (1957).
88. MAKMAN, M.H.,
SUTHERLAND, E.W.: Use of liver adenyl cyclase for assay of glucagon in human gastrointestinal tract and pancreas. Endocrinology 75, 127-134 (1964).
89. MAYER, S.,
MORAN, N.C.,
FAIN, J.: The effect of adrenergic blocking agents on some metabolic actions of catecholamines. J. Pharmacol. 134, 18-27 (1961).
90. MERSMANN, H.J.,
SEGAL, H.L.: An on-off mechanism for liver glycogen synthetase activity. Proc. Nat. Acad. Sci. 58, 1688-1693 (1967).

91. MORGAN, C.R.,
LAZAROW, A.: Immunoassay of insulin: two antibody
systemes. Plasma insulin levels of
normal, subdiabetic, and diabetic rats.
Diabetes 12, 115-126 (1963).
92. MORTIMORE, G.E.: Effect of insulin on release of glucose
and urea by isolated rat liver.
Am. J. Physiol. 204, 699-704 (1963).
93. NAJJAR, V.A.: The isolation and properties of
phosphoglucumutase.
J. Biol.Chem. 175, 281-290 (1948).
94. NIEMEYER, H.,
GONZALES, C.,
ROZZI, R.: The influence of diet on liver
phosphorylase.
J. Biol. Chem. 236, 610-613 (1961).
95. NORDLIE, R.C.,
LYGRE, D.G.: The inhibition by citrate of inorganic
pyrophosphate-glucose phosphotrans-
ferase and glucose-6-phosphatase.
J. Biol. Chem. 241, 3136-3141 (1966).
96. NORTHROP, G.,
PARKS, R.E.: The effects of adrenergic blocking
agents and theophylline on 3',5'-AMP-
induced hyperglycemia.
J. Pharmacol. 145, 87-91 (1964).
97. NOVAK, M.,
MELICHAR, V.,
HALM, P.: Lipid metabolism in adipose tissue from
human infants.
Biologica neonat. 9, 105-114 (1967).
98. PATON, D.M.: Pregnancy complicated by diabetes.
Amer.J.Obstet.Gynec. 83, 1562-1578
(1962).
99. PATRICK, S.J.,
TULLOCH, J.H.: Glucose-phosphatase activity in human
diabetes.
Lancet i, 811-812 (1957).
100. PICARD, C.,
OOMS, H.A.,
BALASSE, E.,
CONARD, V.: Effect of normal pregnancy on glucose
assimilation, insulin, and non ester-
ified fatty acids levels.
Diabetologica 4, 16-19 (1968).

101. RALL, T.W.,
SUTHERLAND, E.W.:
Adenyl-cyclase II. The enzymatically catalyzed formation of adenosine 3',5'-phosphate and inorganic pyrophosphate from adenosine triphosphate.
J. Biol. Chem. 237, 1128-1232 (1962).
102. RALL, T.W.,
SUTHERLAND, E.W.,
BERTHET, J.:
The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase in liver homogenates.
J. Biol. Chem. 224, 463-475 (1957).
103. RALL, T.W.,
SUTHERLAND, E.W.,
WOSILAIT, W.D.:
The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase. III. Reactivation of liver phosphorylase in slices and in extracts.
J. Biol. Chem. 218, 483-495 (1956).
104. RANDLE, P.J.,
GARLAND, P.B.,
HALES, N.C.,
NEWSHOLME, E.A.:
Glucose fatty-acid cycle: its role in insulin sensitivity and metabolic disturbances of diabetes mellitus.
Lancet i, 785-789 (1963).
105. RATHGEN, G.H.,
BAUMANN, W.,
SCHÜMICHEN, C.,
FRIEDBERG, V.:
Untersuchungen zum Kohlenhydratstoffwechsel in der Leber während der Gestation.
Arch.Gynaec. 208, 353-372 (1970).
106. RATHGEN, G.H.,
EVERS, K.:
Das Verhalten der Pyridin-Nucleotide in der Rattenleber während der Trächtigkeit.
Klin.Wschr. 47, 1326 (1969).
107. RAY, W.J.,
RCSCELLI, G.A.:
Activation and inhibition in the phosphoglucomutase system.
J. Biol. Chem. 241, 2596-2602 (1966).
108. REITER, M.,
NOÉ, J.:
Die Phosphorylase Aktivität der Leber unter dem Einfluß von Hunger und bei Vergiftung mit Aminitin.
Biochem. Z. 328, 454-457 (1957).
109. RILEY, G.A.:
Action of adenosine-3',5'-phosphate in dog liver preparation.
Fed. Proc. 22, 258 (1963).

110. ROSENLOECHER, K.: Die Veränderungen des Pankreas in der Schwangerschaft bei Mensch und Tier. Arch.Gynaec. 151, 567-575 (1932).
111. ROTH, J.,
GLUCK, S.M.,
YALOW, R.R.,
BERSON, S.A.: Hypoglycemia: potent stimulus to secretion of growth hormone. Science 140, 987 (1963).
112. SCHALCH, D.S.,
KIPNIS, D.M.: Impairment of carbohydrate tolerance by elevated plasma free fatty acids. J. Clin. Invest. 43, 1283 (1964).
113. SCHIMASSEK, H.: Metabolite des Kohlenhydratstoffwechsels der isoliert perfundierten Rattenleber. Biochem. Z. 336, 460-467 (1963).
114. SCHIMASSEK, H.,
HELMS, J.,
MITZKAT, H.J.: Distinct antagonistic effects of glucagon and insulin in the Embden-Meyerhof-chain. International Symposium on the Pharmacology of hormonal Polypeptides and Proteins, S. 27 (1967).
115. SCHIMASSEK, H.,
MITZKAT, H.J.: Über eine spezifische Wirkung des Glucagon auf die Embden-Meyerhof-Kette in der Leber. Biochem. Z. 337, 510-518 (1963).
116. SCHMID, R.,
ROBBINS, P.W.,
FRANK, R.K.: Glycogen synthesis in muscle lacking phosphorylase. Proc.Nat.Acad.Sci. 45, 1236-1240 (1959).
117. SCHMIDT, E.,
SCHMIDT, F.W.,
WILDHIRT, E.: Ferment-Aktivitätsbestimmungen in der menschlichen Leber. VI. Mitteilung. Ergebnisse der Untersuchungen weiterer 7 Enzyme des energieliefernden Stoffwechsels in der normalen und pathologisch veränderten menschlichen Leber. Untersuchungen über den Eiweiß- und Blutgehalt in Leberpunktaten. Klin.Wschr. 37, 1221-1229 (1958).

118. SCHMIDT, E.,
SCHMIDT, F.W.,
WILDHIRT, E.: Vergleichende Aktivitätsbestimmungen
von Enzymen des energieliefernden Stoff-
wechsels in der menschlichen und in der
Rattenleber.
Klin. Wschr. 36, 172-176 (1958).
119. SIE, H.G.,
FISHMAN, W.H.: Glycogen-synthetase: Its response to
cortisol.
Science, 143, 816-817 (1964).
120. SMITH, C.G.: Regulation of cell metabolism: role of
cyclic AMP.
Ann.Rep.Med.Chem.Ch. 28 (1966).
121. SOKAL, J.E.,
MILLER, L.L.,
SARCIONE, E.J.: Glycogen metabolism in the isolated
liver.
Am. J. Physiol. 195, 295-300 (1958).
122. SORENSEN, N.S.: Studies on liver phosphorylase.
IV. The influence of starvation on the
activity of liver phosphorylase in
normal, adrenalectomized, and adreno-
demedullated rats.
Rep.Steno Memorial Hosp. 7, 131-142
(1958).
123. SORENSEN, N.S.: Studies on liver phosphorylase.
VII. The activity of liver phosphorylase
in rats treated with insulin and in
diabetic rats.
Rep. Steno Memorial Hosp. 7, 178-185
(1958).
124. SPELLACY, W.N.,
GALL, S.A.,
CARLSON, K.L.: Carbohydrate metabolism of the normal
term newborn: plasma insulin and blood
glucose levels during an intravenous
glucose tolerance test.
Obstet. Gynec. N.Y. 30, 580-583 (1967).
125. STEINER, D.F.: Mechanisms of regulation of hepatic
glycogen synthesis.
Nature 204, 1171-1173 (1964).
126. STETTEN, D.,
STETTEN, M.: Glycogen metabolism.
Physiol.Rev. 40, 505-537 (1960)

127. STRUCK, E.,
ASHMORE, J.,
WIELAND, D.: Stimulierung der Gluconeogenese durch langkettige Fettsäuren und Glucagon. Biochem. Z. 343, 107-110 (1965).
128. SUTHERLAND, E.W.,
ØYE, I.,
BUTCHER, R.W.: The action of epinephrine and the role of the adenyl-cyclase system in hormone action. Recent Progr. Hormone Res. 21, 623-642 (1965).
129. SUTHERLAND, E.W.,
RALL, T.W.: The relation of adenosine-3',5'-phosphate and phosphorylase to the action of catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev. 12, 265-299 (1960).
130. SUTHERLAND, E.W.,
RALL, T.W.,
THENON, T.: Adenyl-cyclase. I. Distribution, preparation, and properties. J. Biol. Chem. 237, 1220-1227 (1962).
131. SUTHERLAND, E.W.,
ROBISON, G.N.: Metabolic effects of catecholamines. A. The role of cyclic 3',5'-AMP in responses to catecholamines and other hormones. Pharmacol. Rev. 18, 145-161 (1966).
132. SUTHERLAND, E.W.,
WOSILAIT, W.D.: The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase. I. Liver phosphorylase: Preparation, and properties. J. Biol. Chem. 218, 459-468 (1956).
133. SWANSON, M.A.: Phosphatases of liver: Glucose-6-phosphatase. J. Biol. Chem. 184, 647-653 (1950).
134. THORN, W.,
HABEL, G.: Kohlenhydratgehalt in Gehirn, Leber, Niere, Herz- und Skelettmuskel nach körperlicher Arbeit und Phenolinjektion bei normaler und kohlenhydratfreier Ernährung. Pflügers Archiv 275, 64-70 (1962).
135. THORN, W.,
JACOBS, G.: Metabolitgehalt der Rattenleber nach Nahrungsentzug. Biochem. Z. 335, 440-442 (1962).

136. THORN, W.,
SCHEITZA, H.: Glucosebildung und Glykogeneinlagerung in Gehirn, Leber, Niere, Herz- und Skelettmuskel bei kohlenhydratfreier Ernährung.
Pflügers Archiv. 273, 18-28 (1961).
137. UNGER, R.H.,
EISENTRAUT, A.M.: Studies of the physiologic role of glucagon.
Diabetes 13, 563-568 (1964).
138. UNGER, R.H.,
EISENTRAUT, A.M.,
MADISON, L.L.: Effects of starvation upon levels of circulating glucagon and insulin in man.
J. Clin. Invest. 42, 1031-1039 (1963).
139. WALKER, D.G.,
HOLLAND, G.: The development of hepatic glucokinase in the neonatal rat.
Biochem. J. 97, 845-854 (1965).
140. WEBER, G.: Hormonal regulation and liver enzymes.
Gastroenterology 52, 984-988 (1967).
141. WEBER, G.,
ALLARD, C.,
LAMIRANDE, G. de,
CANTERO, A.: Liver glucose-6-phosphatase activity and intracellular distribution after cortisone administration.
Endocrinology 58, 40-50 (1956).
142. WEBER, G.,
CANTERO, A.: Effect of fasting on liver enzymes involved in glucose-6-phosphate utilization.
Am. J. Physiol. 190, 229-234 (1957).
143. WEBER, G.,
CANTERO, A.: Behavior of enzymes involved in glucose-6-phosphate utilization during 6-day fasting. Study of hepatic glucose-6-phosphatase, phosphohexoseisomerase, and phosphoglucomutase.
Expt. Cell Res. 14, 596-607 (1958).
144. WEBER, G.,
CANTERO, A.: Studies on hormonal factors influencing hepatic glucose-6-phosphatase.
Endocrinology 61, 701-712 (1957).
145. WEBER, G.,
HARPUR, E.R.: Liver enzymes in glycogen storage disease.
Metabolism 9, 880-883 (1960).

146. WEBER, G.,
HIRD-CONVERY, H.J.,
LEA, M.A.,
STAMM, N.B.: Feedback inhibition of key glycolytic enzymes in liver: action of free fatty acids.
Science 154, 1357-1360 (1966).
147. WEBER, G.,
LEA, A.,
HIRD-CONVERY, H.J.,
STAMM, N.B.: Regulation of gluconeogenesis and glycolysis: studies of mechanisms controlling enzym activity.
Advances Enzym Regul. 5, 257-298 (1967).
148. WEBER, G.,
SINGHAL, R.L.,
SRIVASTAVA, S.K.: Insulin: suppressor of biosynthesis of hepatic gluconeogenic enzymes.
Proc.Nat.Acad.Sci. 52, 96-104 (1965).
149. WEBER, G.,
SINGHAL, R.L.,
SRIVASTAVA, S.K.: Action of glucocorticoid as inductor and insulin as suppressor of biosynthesis of hepatic gluconeogenic enzymes.
Advances EnzymRegul. 3, 43-75 (1965).
150. WEINTRAUB, B.,
SARCIONE, E.J.,
SOKAL, J.E.: Effect of glucagon on phosphorylase activity of the isolated perfused liver.
Am. J. Physiol. 216, 521-526 (1969).
151. WELSH, G.H.: Studies of abnormal glucose metabolism in pregnancy.
Diabetes 9, 466-470 (1960).
152. WELT, I.D.,
STETTEN, D.W.,
INGLE, D.J.,
MORLEY, E.H.: Effect of cortisone upon rates of glucose production and oxidation in the rat.
J. Biol. Chem. 197, 57-66 (1952).
153. WILKERSON, H.,
O'SULLIVAN, J.B.: A study of glucose tolerance and screening criteria in 752 unselected pregnancies.
Diabetes 12, 313-319 (1963).
154. WOSILAIT, W.D.,
SUTHERLAND, E.W.: The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase. II. Enzymatic inactivation of liver phosphorylase.
J. Biol.Chem. 218, 469-481 (1956).
155. WU, R.: Regulatory mechanisms in carbohydrate metabolism. V. Limiting factors of glycolysis in Hela cells.
J. Biol.Chem. 234, 2806-2810 (1959).

LEBENS LAUF

Am 27. 9. 1946 wurde ich als Sohn des prakt. Arztes Hermann Nauroth und seiner Ehefrau Eleonore, geb. Michelbach in Gebhardshain geboren. Von 1953 bis 1957 besuchte ich die Volksschule Gebhardshain und anschließend bis zum Abitur im März 1966 das Staatl. Neusprachl. Gymnasium in Wissen/Sieg. Im Sommersemester 1966 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Johannes Gutenberg Universität in Mainz, wo ich im Wintersemester 1966/67 die Naturwissenschaftliche und im Wintersemester 1968/69 die Arztliche Vorprüfung ablegte. Am 21. 6. 1972 beendete ich mein Studium mit dem Staatsexamen an der Universität Mainz. Seit dem 2. 10. 1972 bin ich als Medizinalassistent auf der Inneren Abteilung des St. Antoniuskrankenhauses in Wissen/Sieg beschäftigt. Später beabsichtige ich, die Landpraxis meines Vaters zu übernehmen.

